BAND 38, HEFT 2 APRIL 1960

PHYTOPATHOLOGISCHE ZEITSCHRIFT

Begründet von Prof. Dr. E. Schaffnit

Unter Mitwirkung von

Prof. Dr. E. Baldacci, Mailand / Prof. Dr. H. Braun, Bonn / Prof. Dr. W. B. Brierley, Keswick-Cumberland / Prof. Dr. N. Hiratsuka, Tokyo / Oberreg.-Rat i. R. Dr. E. Köhler, Braunschweig / Prof. Dr. K. O. Müller, Canberra / Prof. Dr. H. M. Quanjer, Wageningen / Prof. Dr. T. S. Sadasivan, Madras / Prof. Dr. Tr. Savulescu, Bukarest Prof. Dr. K. Silberschmidt, São Paulo / Prof. Dr. E. C. Stakman, St. Paul

herausgegeben von den Professoren

E. Gäumann Zürich

M. Klinkowski Aschersleben

H. Richter Berlin-Dahlem

Mit 43 Abbildungen

1960

PAUL PAREY IN BERLIN UND HAMBURG

Phytopath. Z. Bd. 38 **Heft 2** *S. 109—216 Berlin 1960*

Postverlagsort Berlin

NSP RAM MM

COMMONWEALTH MYCOLOGICAL INSTITUTE 9 MAY 1960

INHALT

Abhandlungen

STRUNK, CH., und H. WARTENBERG, Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen der Chloroplasten chlorotischer Maispflanzen. Mit 15 Abb. 109

TAKAMURA, Y., T. SHIMOMURA and T. HIRAI, The nucleic acids concentrations in mulberry leaves as affected by dwarf disease. With 5 Fig. 123

COSTA, A. S., and A. M. B. CARVALHO, Comparative studies between *Abutilon* and *Euphorbia* mosaic viruses. With 10 Fig. 129

WIBERG, A., Physiological Races of *Erysiphe graminis* DC f. sp. *hordei* Marchal in Sweden 153

NÖLLE, H.-H., Über den Wurzelbrand der Zuckerrübe und seine Bekämpfung. Mit 9 Abb. 161

GARAY, A., und F. SÁGI, Untersuchungen über die Geschlechtsumwandlung bei *Melandrium album* Mill. nach Infektion mit *Ustilago violacea* (Pers.) Fckl. unter besonderer Berücksichtigung der Auxinoxydase und Flavonoide. Mit 2 Abb. 201

Kurze Mitteilungen

KEGLER, H., Zur Differenzierung von Kirschenviren. 1. Die Viren der Pfeffinger (Rosetten-) und der Stecklenberger Krankheit. Mit 2 Abb. 209

Besprechungen 214

Manuskripte: In deutscher, englischer, französischer oder italienischer Sprache abgefaßte Originalarbeiten werden druckfertig und möglichst in Schreibmaschinenschrift erbeten. Aufnahme von Tabellen und Abbildungen unterliegt jeweils vorheriger Vereinbarung.
„Kurze Mitteilungen" sind solche Veröffentlichungen in den vorerwähnten Sprachen, die im allgemeinen einen Umfang von vier Druckseiten nicht übersteigen. Sie erscheinen möglichst schon im nächsten Heft.
Die „Besprechungen" erscheinen nur in deutscher Sprache.

Herausgeber: Prof. Dr. E. GÄUMANN, Zürich 6, Universitätsstraße 2, Prof. Dr. M. KLINKOWSKI, Aschersleben, Ermslebener Str. 52, und Prof. Dr. H. RICHTER, Berlin-Dahlem, Königin-Luise-Str. 19. Zusendung der Manuskripte von Originalarbeiten und „Kurzen Mitteilungen" entweder an den Verlag Paul Parey, Berlin SW 61, Lindenstraße 44/47, oder an einen der drei Herausgeber.
Zusendung der „Besprechungen" unmittelbar an Prof. RICHTER, Berlin-Dahlem. Soweit nicht eine Aufforderung der Herausgeber zur Besprechung bestimmter Arbeiten ergangen ist, empfiehlt es sich, Prof. RICHTER vorher von der Absicht der Besprechung zu verständigen.

Honorierung: Das Mitarbeiterhonorar für Originalarbeiten und „Kurze Mitteilungen" beträgt 32,— DM je Druckbogen von 16 Seiten. Bei Beiträgen von mehr als drei Bogen werden nur die ersten drei Bogen honoriert; Dissertationen und Buchbesprechungen sind honorarfrei.

Sonderdrucke: Jeder Mitarbeiter erhält unberechnet 30 Sonderdrucke seines Beitrages (Originalarbeiten und Kurze Mitteilungen). Mehrbedarf gegen Berechnung.

Vorbehalt aller Rechte, insbesondere auch der photomechanischen Vervielfältigung: Alle Rechte, auch die der Übersetzung, des Nachdrucks und der photomechanischen Wiedergabe sind vorbehalten. Gewerblichen Unternehmen wird die Anfertigung einer photomechanischen Vervielfältigung von Beiträgen oder Beitragsteilen für den innerbetrieblichen Gebrauch durch Photokopie, Mikrokopie und dergleichen, nach Maßgabe des zwischen dem Börsenverein des Deutschen Buchhandels und dem Bundesverband der Deutschen Industrie abgeschlossenen Rahmenabkommens vom 14. 6. 1958, gegen Bezahlung der dort vorgesehenen Gebühr bis zu 3 Exemplaren gestattet. Die Vervielfältigungen haben einen Vermerk über die Quelle und den Vervielfältiger zu tragen. Die in dem Rahmenabkommen vorgesehene Gebühr ist an die Inkassostelle für Photokopiergebühren beim Börsenverein des Deutschen Buchhandels e. V., Frankfurt/M., Gr. Hirschgraben 17-19, zu entrichten. Erfolgt die Entrichtung der Gebühren durch Wertmarken der Inkassostelle, so ist für jedes Photokopierblatt eine Marke im Werte von DM 0,30 zu verwenden. Mit der Überlassung des Manuskriptes überträgt der Verfasser dem Verlag das Recht zu dieser Genehmigung.

Erscheinungsweise: Die Zeitschrift erscheint in zwangloser Folge. Jährlich erscheinen etwa 10—12 Hefte, von denen 4 einen Band bilden. Jeder Band enthält etwa 30 Druckbogen.

Bezugsbedingungen: Der Preis des Bandes richtet sich nach dem Umfang. Er beträgt je Druckbogen von 16 Seiten etwa 3,50 DM. Die Hefte sind auch einzeln käuflich. Das Abonnement verpflichtet zum Bezug eines ganzes Bandes. Es verlängert sich jeweils, falls nicht spätestens unverzüglich nach Eingang der letzten Lieferung des berechneten Bandes Abbestellung erfolgt.

Verlag: Paul Parey, Berlin SW 61, Lindenstraße 44/47, Telefon 61 44 68/69. Printed in Germany (Westberlin).

Abonnementspreis dieses Heftes 26,80 DM **Einzelpreis 29,50 DM**

Aus dem Institut für Allgemeine Botanik
der Friedrich-Schiller-Universität Jena

Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen der Chloroplasten chlorotischer Maispflanzen

Von

Christa Strunk und H. Wartenberg

Mit 15 Abbildungen

Inhalt: I. Einleitung. — II. Material und Methode. — III. Untersuchungen an Chloroplasten bei Mangelchlorose. — IV. Untersuchungen an Chloroplasten bei funktioneller Chlorose. — V. Diskussion. — Zusammenfassung. — Summary. — Literaturverzeichnis.

I. Einleitung

Chlorosen äußern sich „nicht nur in einer unternormalen, sondern auch in einer sich stetig vermindernden Chlorophyllfärbung". Nach ihren Entstehungsursachen muß man zwischen funktioneller Chlorose (Altersvergilbung), infektiöser Chlorose als Symptom viröser Krankheiten, Chlorosen, die durch Toxine von Insekten, Pilzen und Bakterien hervorgerufen werden und ökologisch bedingten Chlorosen unterscheiden (Wartenberg 1954). Neben den physiologischen Problemen, die jede chlorotische Pflanze stellt, interessieren auch die Substrukturen der Chloroplasten in den Blättern. Dabei ist zu beachten, ob die Blätter bereits während der Entwicklung von den chlorotisierenden Einflüssen betroffen wurden und infolgedessen nicht erst ergrünen konnten, oder ob ein funktionstüchtiges, ausgewachsenes grünes Blatt vergilbte. Im ersten Falle werden die frühesten Entwicklungsstadien der Chloroplasten geschädigt, wobei ihr endgültiges Ausdifferenzieren gehemmt wird, während sich im zweiten Falle die ungünstigen Verhältnisse auf voll ausdifferenzierte und assimilatorisch tätige Chloroplasten zerstörend auswirken (Frey-Wyssling, Ruch u. Berger 1955) und das Blattgrün entfärbt wird. Dieser Unterschied ist beim Beurteilen chlorotischer Chloroplasten zu berücksichtigen.

Aus der älteren Literatur ist bekannt, daß die Chloroplasten chlorotischer Blätter bei Eisenmangelchlorose, allgemein bei Mangelchlorosen, in ihrem Aussehen von dem der Chloroplasten normalgrüner Blätter abweichen. Gris (1857) hatte in gelbem Blattgewebe teilweise nur kaum gefärbte, gra-

nulöse Massen gefunden. ZIMMERMANN (1893) dagegen schrieb, daß chlorotische ebenso wie normale Chloroplasten stets scharf umrissene Gestalt haben. ZIMMERMANN bemerkte ferner die geringere Größe, verminderte Anzahl, den Mangel an Stärkekörnern und die schwach gelbe Färbung solcher Chloroplasten im Vergleich zu gesunden. Ähnliche Angaben sind auch bei MAZÉ (1911), WILLSTÄTTER u. STOLL (1918), SCHÜRHOFF (1924), SORAUER (1924), GRIESSMEYER (1930) und in neuerer Zeit bei JACOBSON und OERTLI (1956) zu finden. FREY-WYSSLING, RUCH und BERGER (1955) demonstrierten mit lichtmikroskopischen Aufnahmen, daß die Granulierung, die bei normalgrünen Chloroplasten typisch ist, den Plastiden der stark chlorotischen Blattgewebe fehlt.

Es mangelte nicht an Versuchen, chlorotische Blätter zum Ergrünen zu bringen (GRIS 1857, ZIMMERMANN 1893, MAZÉ 1911, JACOBSON und OERTLI 1956). Wenn es sich bei den Chlorosen um eine Ergrünungshemmung handelt, bedeutet das Gelingen solcher Ergrünungsversuche also ein verspätetes Ergrünen der durch Störungen bisher gelb gebliebenen Blätter; mit anderen Worten: die entwicklungsgehemmten Chloroplasten sind unter geeigneten Bedingungen in der Lage, ihr endgültiges Ausdifferenzieren nachzuholen (FREY-WYSSLING, RUCH und BERGER 1955). Ist die chlorotische Pflanze jedoch durch zu lange Krankheitsdauer über ein Anfangsstadium der Pathogenese hinaus, dann läßt sich die Chlorose experimentell nicht mehr rückgängig machen (FREY-WYSSLING, RUCH und BERGER 1955, JACOBSON und OERTLI 1956, WETTSTEIN 1957 a).

Verfallserscheinungen der Chloroplasten während des herbstlichen Vergilbens (funktionelle Chlorose) wurden von SACHS (1863), TSWETT (1908), MEYER (1917), MOLISCH (1918), BRESLAWETZ (1926), NOLL (1954) u. a. beschrieben. Die Beobachter haben Verfärbungen der Chloroplasten, die Verminderung ihrer Größe und Anzahl, partielle Zerstörungen der Chloroplasten sowie das Entstehen von Abbauprodukten, die im Chloroplastenstroma und in den Zellen zu sehen sind, besprochen.

In der vorliegenden Abhandlung wird über Ergebnisse von Untersuchungen an Maisblättern berichtet. Es handelt sich hauptsächlich um Chlorosen, die durch mangelhafte Ernährungsbedingungen, also nach dem ersten Typus, verursacht waren. Dieser Chlorosetyp ist ausschließlich eine Ergrünungshemmung. Dem wurden einige vergleichende Untersuchungen an Maisblättern gegenübergestellt, die nach dem zweiten Typ vergilbt waren.

II. Material und Methode

Wir haben unsere Beobachtungen größtenteils an einer in Wasserkulturen bei *Zea mays* künstlich erzeugten Chlorose gemacht. Als „Mangellösung" diente mit einigen Abänderungen die Nährlösung nach HOAGLAND Nr. 3 (SCHROPP 1951). Die Azidität der Nährlösung wurde möglichst bei etwa pH 5,6 bis pH 6,2 gehalten, und jegliche Eisenzugabe ist vermieden worden. Die Kontrollen wuchsen in der Nährlösung nach HOAGLAND Nr. 7 auf, in der die Azidität bei pH 4,5 bis pH 4,9 reguliert war.

Für lichtmikroskopische Untersuchungen verwendeten wir unfixierte Oberflächenschnitte der Blattunterseite. Fixiertes Material erwies sich zur Klärung von Struktureinzel-

heiten als ungeeignet (vgl. GRAVE 1954). Die Mikroaufnahmen wurden teils mit Mikroplatten in Verbindung mit der Universal-Aufsetzkamera Miflex, teils mit der Practica (6/10- oder 10/10-Filme) in Verbindung mit dem Miflexgrundkörper ausgeführt.

Für elektronenmikroskopische Zwecke sind etwa 1 mm² große Blattstückchen in 2%iger gepufferter OsO_4-Lösung nach PALADE (1952 a) bei einer cH^+ von pH 7,2 (HODGE, MCLEAN und MERCER 1955) eine bis sechs Stunden fixiert, anschließend in üblicher Weise über Alkoholstufen entwässert und in Butyl-Methyl-Methacrylat (8 : 2) eingebettet worden. Die Polymerisation geschah im UV-Licht und war nach sechs bis acht Stunden beendet (NIKLOWITZ 1958). Zur Herstellung von Ultradünnschnitten stand ein Ultramikrotom nach NIKLOWITZ zur Verfügung. Die elektronenmikroskopischen Originalaufnahmen erfolgten bei 11 000facher Vergrößerung mit dem elektrostatischen Elektronenmikroskop Typ C, Zeiss, und bei 8700facher Vergrößerung mit dem elektromagnetischen Elektronenmikroskop Typ HF, Werk für Fernmeldewesen Berlin-Oberschöneweide.

III. Untersuchungen an Chloroplasten bei Mangelchlorose

Maispflanzen, die nach anfänglichem Kultivieren unter normalen Ernährungsbedingungen in die Mangellösung gesetzt wurden, hatten bei geeigneten Temperaturverhältnissen die ersten äußerlich sichtbaren Anzeichen der Chlorose bereits nach wenigen Tagen. Jüngere Blätter entwickelten in Abschnitten, die noch im Wachstum waren, nicht mehr ihre normale Farbe. Anfänglich entstand hellgrünes Gewebe, unter dem anhaltenden Einfluß der chlorotisierenden Bedingungen wuchs schließlich nur noch gelbgrünes bis fahl geblichweißes Blattgewebe. Häufig hob sich die Nervatur durch ein vorübergehend dunkleres Grün von den helleren Interkostalfeldern ab, so daß die Blätter gestreift erschienen (vgl. ZIMMERMANN 1893, SORAUER 1924, SCHROPP 1951). Da ja in solchem Falle grüne Blattabschnitte nachträglich nicht vergilben, konnten ältere Blätter alle Farbtöne von Dunkelgrün bis Gelblichweiß in kontinuierlicher Aufeinanderfolge haben. Junge Blätter, die sich erst während der Krankheit entfaltet hatten, waren — je nachdem, ob sie zu Beginn der Chlorose oder erst später gebildet wurden — vollständig hellgrün bis gelblichweiß. An einer einzigen chlorotischen Maispflanze waren also sämtliche Farbstufen einer Mangelchlorose zu finden.

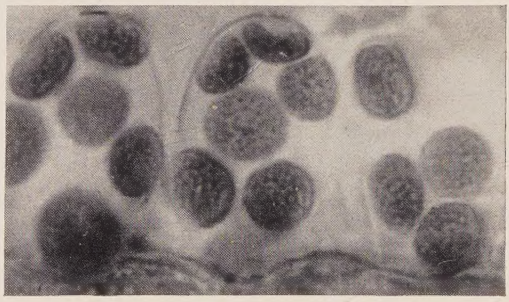


Abb. 1. Chloroplasten der Interkostalfelder gesunder, grüner Blattgewebe. Granastruktur gut sichtbar. 1500×

Bei den lichtmikroskopischen Untersuchungen sind folgende Beobachtungen gemacht worden. Wie es schon von ZIMMERMANN (1893), RHOADES und CARVALHO (1944) beschrieben worden ist, hatte das Blattgewebe von *Zea mays* auch bei unserem Objekt zwei Chloroplastentypen. Während die Mesophyllzellen gesunder, grüner Blätter von normal strukturierten Chloroplasten reichlich angefüllt waren (Abb. 1), enthielten die Zellen der Parenchymscheiden auffällig große Chloroplasten (Abb. 2 a). Den

Parenchymscheiden-Chloroplasten fehlte die normale Granastruktur, wie es bereits HODGE, MCLEAN und MERCER (1955) elektronenmikroskopisch nachgewiesen haben (vgl. Abb. 1 mit Abb. 2 a). Meistens sind die Chloroplasten der Parenchymscheidenzellen mit Stärkekörnern erfüllt (Abb. 2 b).

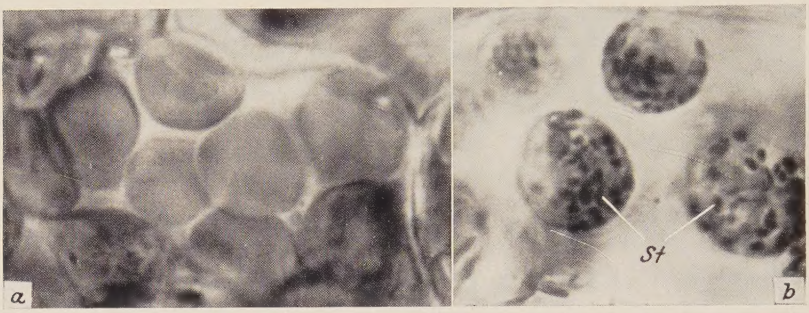


Abb. 2. Chloroplasten der Parenchymscheiden-Zellen gesunder, grüner Blattgewebe. a) Keinerlei Granastruktur sichtbar. b) Die beim Präparieren verquollenen Chloroplasten sind reichlich mit Stärke angefüllt (Lugolsche Stärkefärbung). 1500×

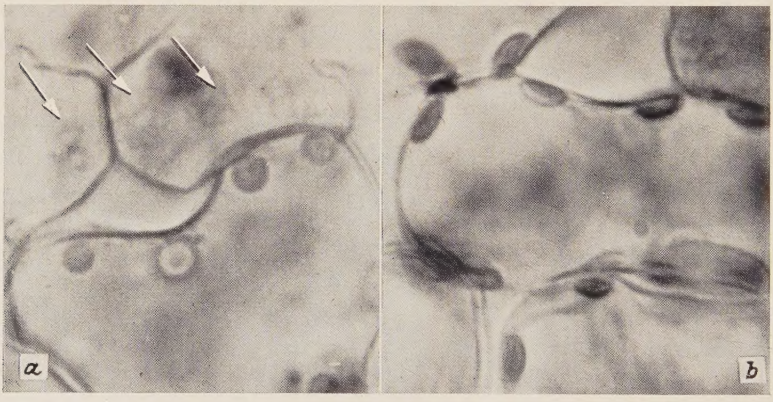


Abb. 3 a und b. Gelblich-weiße Zone eines mangelchlorotischen Blattes. Die Chloroplasten sind ohne Granastruktur. Im oberen Teil der Abbildung a sind mehrere schaumig verquollene Chloroplasten zu sehen (Pfeile). 1500×

Die Zellen des Mesophylls hatten beim Beginn der Chlorosesymptome noch kräftig grüne und deutlich strukturierte Chloroplasten, die jedoch kleiner als normal waren. In später gebildeten, nur noch hellgrünen Blattregionen waren auffallendere Unterschiede gegen normal zu finden. Die Chloroplasten waren erheblich kleiner und blasser, und ihre Struktur war nur schwer zu erkennen. Extreme Verhältnisse herrschten in den gelblichweißen Blättern, deren völlig granenfreie Plastiden, wie FREY-WYSSLING, RUCH und BERGER (1955) schon beschrieben hatten, farblich kaum noch vom Zellplasma kontrastrierten (Abb. 3 a und b) und sehr klein waren (2

bis 3 μ im Durchmesser; gesunde Chloroplasten haben einen Durchmesser von 5 bis 6 μ). Häufig entstand der Eindruck, als ob die Chloroplasten-Anzahl solcher Zellen stark vermindert sei. Gründlichere Untersuchungen führten jedoch zu der Feststellung, daß die chlorotischen Chloroplasten gegenüber mechanischen Schädigungen während des Präparierens weit empfindlicher sind als gesunde; ein Zerfließen, Aufquellen und Schaumigwerden kann leicht eintreten (Abb. 3 a oben). Diese Artefakte heben sich wenig vom Untergrund ab, so daß sie leicht dem Auge entgehen können. Mit Hilfe fixierter und gefärbter Mikrotomschnitte bekannter Dicke war eine Ermittlung der wahren Chloroplasten-Anzahl in stark chlorotischen Geweben möglich. Grobe Schätzungen ergaben eine nur wenig geringere Chloroplastenmenge gegenüber den gesunden Blattgeweben.

Bei sehr lang anhaltender Chlorose wurden, wenn die Fähigkeit zum nachträglichen Ergrünen bereits verloren war, Veränderungen an den extrem chlorotischen Chloroplasten bemerkt. Im Stroma traten kleine dunkle Einschlüsse auf (Abb. 4). Das Ausbleiben der Reaktion nach Lugol und nach Nêmec (Schneider-Zimmermann 1922) sprach gegen eine Annahme von Stärke. Aufschlüsse über die Natur dieser fraglichen Strukturen brachten erst die elektronenmikroskopischen Untersuchungen.

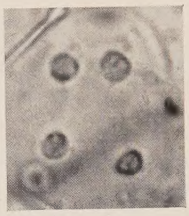


Abb. 4. Gelblich-weiße Zone eines älteren mangelchlorotischen Blattes, das nicht mehr nachträglich ergrünen kann. Die Chloroplasten enthalten dunkle Einschlüsse. 1500×

Auch die Chloroplasten der Parenchymscheidenzellen waren in chlorotischen Blättern nicht mehr grün und normal groß, sondern blasser und kleiner, obgleich sie gegenüber den Mesophyll-Chloroplasten stets voluminöser blieben. Ihr Stärkegehalt ließ im Verlauf der Chlorose nach.

Die Aussagen Zimmermanns (1893) können bestätigt werden. Selbst extrem chlorotische Chloroplasten hatten stets eine definierte Gestalt. Gris (1857), der unbestimmbare Massen fand, sah vermutlich die oben erwähnten Artefakte, die verquollenen und schaumig zerfließenden Plastiden.

Die elektronenmikroskopischen Untersuchungen hatten folgende Ergebnisse. Aus technischen Gründen mußten wir die Arbeit auf Beobachtungen von Chloroplasten extremer Stadien gelblichweißer Gewebe beschränken. Auch hier interessierten uns nur die normalerweise granulierten Chloroplasten der Mesophyllzellen.

Durch die Arbeit von Hodge, McLean und Mercer (1955) ist die Substruktur normal grüner Maischloroplasten bereits bekannt. Ihre Beobachtungen können — soweit es die elektronenoptischen Bedingungen der von uns benutzten Elektronenmikroskope zuließen — bestätigt werden. In Abbildung 5 ist der Ausschnitt eines Chloroplasten aus gesundem Mesophyllgewebe von *Zea mays* zu sehen. Die Stromalamellenschichten sind durch granuläre Grundsubstanz voneinander getrennt. An günstig getroffenen Stellen lassen sich die Granalamellen erkennen (Pfeile), die aus einer Gabelung der Stromalamellen hervorgehen. Vereinzelte Stromalamellen können benachbarte

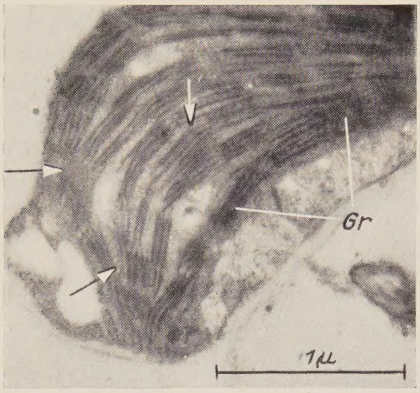


Abb. 5. Ausschnitt aus gesunden, grünen, granulierten Mesophyll-Chloroplasten. Gr = Grana. Die Pfeile weisen auf Granalamellen

Abb. 6. Mangelchlorotischer Chloroplast aus noch ergrünungsfähigem, gelblich-weißem Blattgewebe mit stark aufgelockerter Substruktur

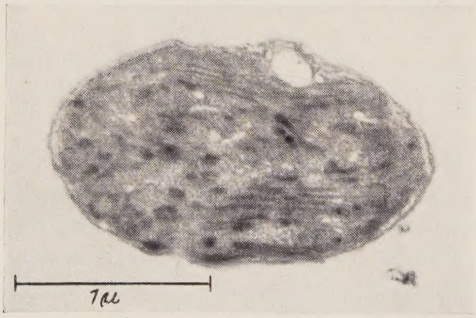


Abb. 7. Mangelchlorotischer Chloroplast von der gleichen Serie wie Abbildung 6. Erläuterungen im Text

Schichten miteinander verbinden. Das gleiche Strukturprinzip liegt nach v. WETTSTEIN (1957 b) Gerstenchloroplasten zugrunde.

An stark chlorotischen Blättern, die aber noch ergrünungsfähig waren, konnten wir beobachten, daß Gewebestückchen ein und desselben Blattes, die wir unter gleichen Bedingungen fixiert und eingebettet hatten, sehr unterschiedliche Ergebnisse lieferten. Bei den meisten Chloroplasten konnte ein stark aufgelockertes Stroma mit der Andeutung einiger Lamellenzüge gesehen werden (Abb. 6), die häufig aus zahlreichen aneinandergereihten, in sich geschlossener ovaler „Blasen" zu bestehen schienen. Nur wenige Objekte ergaben Bilder wie der Chloroplast in Abbildung 7, an dem die dichte und fein granulierte Stromasubstanz auffällig ist. Einige Lamellen waren als dünne Linien zu erkennen. An der Peripherie ließen sich deutlich die Plastidenmembran und das Peristromium verfolgen. Eine Deutung des elektronenoptisch leeren Raumes an der oberen Seite des Chloroplasten kann nicht gegeben werden.

Zur Klärung dieser voneinander abweichenden Ergebnisse (Abb. 6 und 7) sei an die lichtoptisch gemachten Beobachtungen erinnert, bei denen sich herausgestellt hatte, daß chlorotische Chloroplasten beim Präparieren leicht verquellen. Dabei erreichen sie oft ein Vielfaches ihres ursprünglichen Volumens (vgl. Abb. 3 a). Die Länge von etwa 4 μ und seine stark auf-

gelockerte Struktur sprechen eigentlich dafür, daß der Chloroplast der Abbildung 6 wahrscheinlich während des Präparierens aufgequollen ist. Chloroplasten gesunder Pflanzen erleiden beim Präparieren einen Volumenverlust! (MENKE 1957). Dagegen deutet die Größe von etwa 2 μ und die dichte Struktur des Chloroplasten der Abbildung 7 auf einen relativ guten Erhaltungszustand des Objektes. Die Gründe der unterschiedlichen Reaktionsweise des unter gleichen Bedingungen behandelten Materials sind unbekannt geblieben.

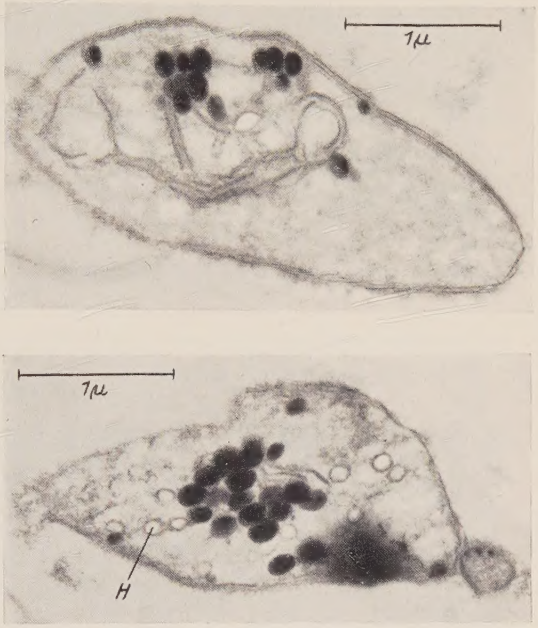


Abb. 8 und 9. Mangelchlorotische Chloroplasten gelblich-weißer, nicht mehr ergrünungsfähiger Blattgewebe mit Globuli-Ansammlungen. Schnitte sind nicht genau median. Auf die Deutung der scharf umrissenen kleinen Hohlräume (H) der Abbildung 9 soll hier verzichtet werden

Wie aus den lichtoptischen Befunden zu erwarten war, fehlten in den hier beschriebenen chlorotischen Chloroplasten die Grana.

An den Chloroplasten gelblichweißer, nicht mehr ergrünungsfähiger, sondern zur Nekrose neigender Blätter fielen Anhäufungen osmophiler Kugeln auf, die in der Plastidenliteratur als Globuli bezeichnet werden (Abb. 8 bis 12; vgl. v. WETTSTEIN 1957 a, FREY-WYSSLING und KREUTZER 1958 a). In median getroffenen Schnitten waren sie oft an den beiden zugespitzten Schmalseiten der Chloroplasten (Abb. 10) zu finden. Die Globuli sind in ihrer Gesamtheit so groß, daß sie im Lichtmikroskop gesehen werden können. Dies steht in Übereinstimmung mit den oben beschriebenen Beobachtungen, daß ältere chlorotische Chloroplasten unter lichtoptischen Bedingungen dunkle Einschlüsse haben (vgl. Abb. 4).

Die angesammelten Globuli sind häufig durch Stromalamellen verbunden. Zuweilen läßt sich annehmen, daß Lamellen und Globuli ineinander übergehen (Abb. 9, 10 u. 11). Die bereits bei den noch ergrünungsfähigen chlorotischen Chloroplasten bemerkte blasig-blättrige Auflockerung der Stromalamellen — im Querschnitt sieht man Blasenketten — überwog auch hier (besonders deutlich in Abb. 8, 11 u. 12). Ob die nahezu kreisrunden, dunkel umrandeten hellen Hohlräume des in Abbildung 9 demonstrierten Chloroplasten eine Beziehung zum Lamellensystem haben, ist unbekannt geblieben.

Besonders beachtenswert ist Abbildung 12. Die großen elektronenoptisch leeren Räume lassen vermuten, daß der Chloroplast Stärke enthielt. Stärkekörner konnten aber in stark chlorotischen Chloroplasten lichtoptisch nicht gefunden werden (vgl. auch ZIMMERMANN 1893).

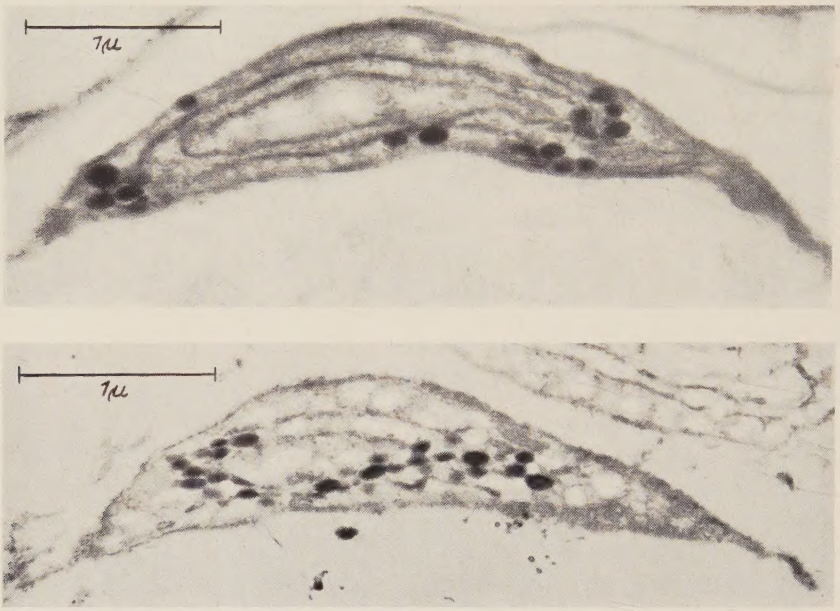


Abb. 10 und 11. Serienschnitt eines mangelchlorotischen Chloroplasten aus gelblich-weißem, nicht mehr ergrünungsfähigem Blattgewebe. Globuli und Lamellen stehen in Zusammenhang miteinander, wie an Abbildung 11 besonders deutlich wird

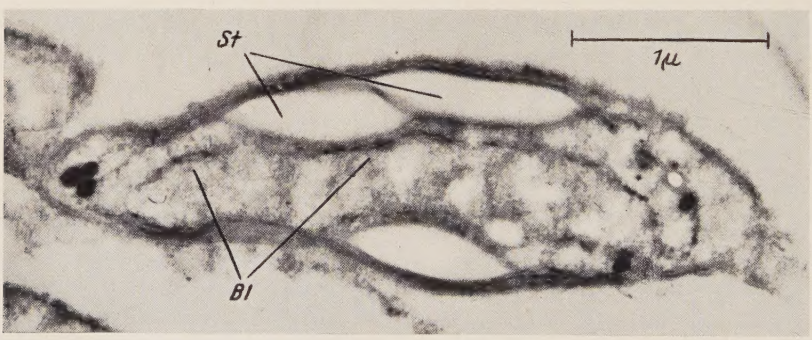


Abb. 12. Wie Abbildung 8 bis 11. Die elektronenoptisch leeren Räume (St) lassen Stärkeeinschlüsse vermuten. Bl = Bläschenartige Lamellenbestandteile. Erläuterungen im Text

Auch die in den Abbildungen 8 bis 12 demonstrierten Chloroplasten sind offenbar während des Präparierens leicht verquollen, wofür ihre Größenausmaße sowie die aufgelockerte Stromasubstanz (vgl. mit Abb. 7) spre-

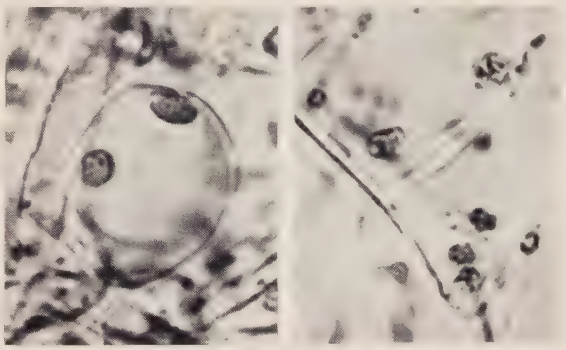
chen. Ähnlich aufgelockerte Strukturen erzielten MERCER, HODGE, HOPE und MCLEAN (1955) an normalen Nitella-Chloroplasten durch Einwirkung hypertonischer Medien.

IV. Untersuchungen an Chloroplasten bei funktioneller Chlorose

Wenn Maisblätter frühzeitig altern, beginnt dieser Prozeß an dem physiologisch ältesten Teil des Blattes, an den Blattspitzen. Dabei fällt auf, daß der vergilbende Bereich nicht wie z. B. bei der zuvor beschriebenen Mangelchlorose mit dem sonst noch grünen Blatt durch allmähliche Farbübergänge verbunden ist. Der vergilbende Bereich ist scharf begrenzt und der Vergilbungsprozeß endet mit einer rasch eintretenden Nekrose der chlorotischen Zonen. Ältere Maisblätter werden in gleicher Weise über größere Flächen hinweg betroffen.

Zu den nachfolgend beschriebenen Untersuchungen wurden relativ junge Blätter mit vergilbender Spitze von Wasserkulturpflanzen verwendet.

Der Eindruck einer kräftigen Gelbfärbung, den man makroskopisch von den betreffenden Gewebepartien gewonnen hatte, blieb bei der lichtmikroskopischen Beobachtung der Chloroplasten erhalten. Im Gegensatz zu den mangelchlorotischen Plastiden hoben sich die funktionell-chlorotischen deutlich vom Zelluntergrund ab, waren aber wie jene erheblich kleiner als normal grüne (Abb. 13 b). Auffällig war ihre starke Granulierung, die häufig noch der früheren Ordnung der Granastapel folgte (Abb. 13 a). In den Plastiden der Bündelscheidenzellen konnte reichlich Stärke nachgewiesen werden. Vereinzelt war Stärke auch in den Chloroplasten der Mesophyllzellen zu finden.



a b

Abb. 13. Lichtmikroskopische Aufnahmen von Chloroplasten funktionell chlorotischer Blattgewebe. a) Anfangsstadium. b) Chloroplastenabbau stark fortgeschritten. 1500×

Allgemein läßt sich sagen, daß das lichtmikroskopische Bild funktionell chlorotischer Gewebe von Abbauvorgängen beherrscht war. Es nimmt daher nicht wunder, daß der Eindruck einer verminderten Chloroplastenzahl entstand: stark zerstörte Chloroplasten waren vermutlich nicht mehr als solche zu identifizieren.

Die Abbildungen 14 und 15 sind elektronenmikroskopische Aufnahmen. Sie bestätigen, daß die vergilbenden Chloroplasten funktionell chlorotischer Pflanzen Abbauprozessen unterliegen. Die Plastidengrundsubstanz war an vielen Stellen zerrissen oder zerklüftet, die Plastidenränder

sahen „zerfranst" aus. Bisweilen fanden wir nur noch Teile der ehemaligen Chloroplasten vor. Solche Bilder entsprachen etwa den Beobachtungen, die BRESLAWETZ (1926) lichtmikroskopisch an fixiertem Blattmaterial vergilbter Laubbäume beschrieben und gezeichnet hatte.

Auch die Lamellen- bzw. Schichtenstruktur der Chloroplasten hatte sich weitgehend verändert. Zwar erkennt man in den Abbildungen noch eine gewisse Lamellierung, es fällt aber auf, daß die einzelnen Schichten — soweit sie als solche überhaupt noch zu identifizieren sind — nicht durch fein granulierte Stromasubstanz voneinander getrennt waren. Organisierte Granastapel waren nicht zu finden; stattdessen erschienen ellipsoidische Globuli in einer säulenartigen Stapelung, wie man es an günstig getroffenen Schnitten sehen konnte (Abb. 15). Die Vermutung, daß die Globuli aus den ehemaligen Grana hervorgegangen sind, liegt deshalb nahe. Hierdurch findet auch die starke, oft noch regelmäßige Granulierung der lebenden, aber bereits funktionell chlorotischen Chloroplasten (Abb. 13 a) ihre Erklärung. Leider gelang es uns nicht, noch stärker zerstörte Stadien elektronenmikroskopisch zu erfassen.

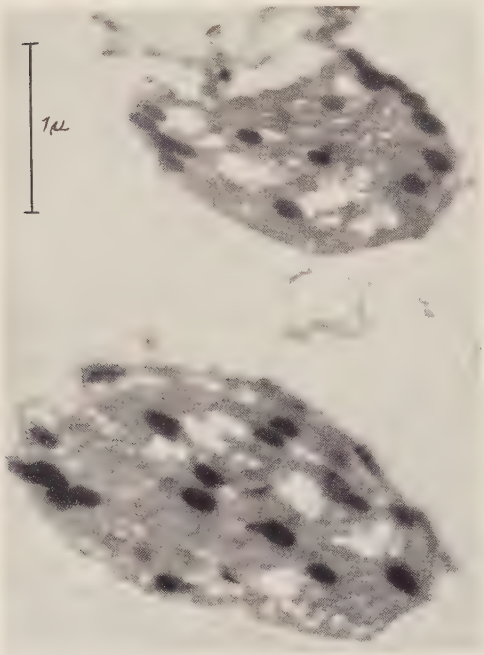


Abb. 14

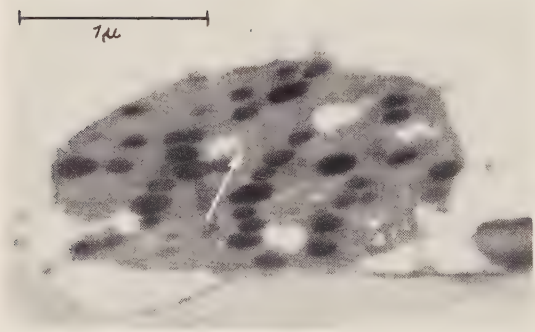


Abb. 15

Abb. 14 und 15. Elektronenmikroskopische Aufnahmen von Chloroplasten funktionell chlorotischer Blattgewebe, zum Teil stark zerstört (Abb. 14). Am Chloroplasten der Abbildung 15 ist die nahezu senkrechte Übereinanderlagerung der Globuli gut zu sehen (Pfeil)

V. Diskussion

Mit unseren lichtmikroskopischen Untersuchungen können wir die Beobachtungen der älteren Autoren (vgl. Einleitung) im wesentlichen bestätigen: Chlorotische Blätter haben ganz allgemein wenige, kleine, chlorophyllarme

und strukturlose, oder von normalen Verhältnissen abweichend strukturierte Chloroplasten. Dabei ist bemerkenswert, daß immer dann, wenn eine Chlorose irreversibel ist (funktionelle Chlorose) oder wird (lang andauernde Ernährungsmangel-Chlorose), osmophile Globuli in den betreffenden Chloroplasten sichtbar werden. Die Deutung ihrer Natur ist schwierig. Solche Globuli sind schon in jungen und ausgereiften Chloroplasten, in Chromoplasten (Frey-Wyssling und Kreutzer 1958 a) sowie von v. Wettstein (1957 a) in chlorophylletalen Chloroplasten beobachtet worden. v. Wettstein hat die Globuli und die Deutungen ihrer Natur auf Grund eigener Beobachtungen und an Hand der älteren Literatur zusammenfassend beschrieben. Daß die Globuli der chlorotischen Chloroplasten gelbe Pigmente enthalten, ist zumindest für den Fall der funktionellen Chlorose anzunehmen (vgl. Frey-Wyssling und Kreutzer 1958 a). Ihre Bildung in Stapeln an Stelle der ehemaligen Grana sowie der Zustand dieser Chloroplasten sprechen dafür, daß es sich hier um Abbauprodukte der Granasubstanz handelt. (Lipophanerose? Vgl. Frey-Wyssling und Kreutzer 1958 a). Lindner (1959) hat in der jüngst veröffentlichten Arbeit „Kugelige Körperchen", die sie in vergilbenden *Elodea*-Blättern gefunden hatte, beschrieben.

Schwieriger sind die Globuli zu erklären, die in alternden und durch Ernährungsmangel chlorotischen Chloroplasten zu finden sind. Man ist zwar geneigt, auch diese als Abbauprodukte zu beschreiben. Hier ist aber zu berücksichtigen, daß diese Plastiden keine Grana hatten. Vielleicht sind sie aus zerfallender Substanz der Stromalamellen entstanden. Es ist aber auch denkbar, daß der stark osmophile Stoff, der in normalen Plastiden scheinbar zum Aufbau der Granasubstanz dient, in chlorotisierenden Plastiden weiter gebildet wird, aber keine Verwendung findet und als Globuli ausscheiden muß. (vgl. v. Wettstein [1957 a] über die Herkunft der Globuli in chlorophylletalen Chloroplasten der Gerste). Hierzu sei noch vermerkt, daß wir in vergleichenden Untersuchungen die Globuli — und zwar auffallend große — in den Chloroplasten viruskranker und deshalb chlorotischer Blätter von *Beta*-Rüben gefunden haben. Wir konnten diesen Fall leider nicht weiter verfolgen.

Hodge, McLean und Mercer (1956) und Frey-Wyssling und Kreutzer (1958 b) haben Globuli als Fixierungsartefakte beschrieben. Auch Strugger hat die Möglichkeit einer solchen Deutung in Erwägung gezogen (Kongreß der Deutschen Botanischen Gesellschaft 1959). Frey-Wyssling und Kreutzer (1958 b) beobachteten, daß die Globuli in elektronenmikroskopischen Präparaten größer wurden. Wir haben dergleichen nicht gesehen. Die Globuli sind zweifellos keine Artefakte des Fixierens, denn sie waren in unseren Objekten auch in Handschnittpräparaten in wäßriger Einbettung vorhanden und mit dem Lichtmikroskop zu sehen. Sie konnten also keine Artefakte einer Technik der Elektronenmikroskopie und des Elektronenbeschusses sein.

Anders ist die Lamellierung der mangelchlorotischen Chloroplasten zu beurteilen. Ihre Zusammensetzung aus aneinandergereihten kleinen Hohlsystemen ist vielleicht auf nachträgliche Strukturänderungen der einzelnen Lamellen infolge Quellungserscheinungen beim Präparieren zurückzuführen,

denn es ist auffallend, daß der in Abbildung 7 dargestellte relativ gut erhaltene Chloroplast diese eigenartige Lamellierung nicht hatte. Die Zusammensetzung der Lamellen mangelchlorotischer Chloroplasten aus Gebilden, die wie kleine Hohlsysteme aussehen, läßt aber auch zu, daß man sie als originell und nicht als Artefakte erklärt. HODGE, MCLEAN und MERCER (1956) sowie HODGE et al. (1956) haben ja das Entstehen der Stromalamellen als ein kettenförmiges (und schließlich flächenförmiges?) Aneinanderreihen bläschenartiger Vorstufen der Lamellen erklärt. (Vgl. auch v. WETTSTEIN 1957 b und HEITZ 1957). Vielleicht begünstigt ein vorangegangenes Verquellen das elektronenoptische Sichtbarwerden der vorhandenen Bläschenelemente (vgl. HODGE et al. 1956).

Danach wäre die Vorstellung möglich, daß die durch Ernährungsmangel in ihrer Entwicklung gestörten Chloroplasten auf dem Stadium der Bläschenverschmelzung stehen geblieben sind. Zu gleichen Schlußfolgerungen gelangten HODGE, MCLEAN und MERCER 1956, vgl. auch 1955) auf Grund ähnlicher Beobachtungen an Chloroplasten, die durch Lichtmangel, und an solchen, die durch Mutation in ihrer Ausdifferenzierung hemmend beeinflußt waren.

An nachträglich belichteten etiolierten Chloroplasten konnten HODGE, MCLEAN und MERCER (1956) die Lamellenbildung aus Bläschenelementen verfolgen. Im Falle der ernährungsmangelchlorotischen Chloroplasten wäre die elektronenoptische Auswertung nachträglich ergrünender Maisblätter ein Weg, um die Natur dieser Hohlsysteme zu ergründen.

Für die elektronenmikroskopischen Arbeiten fanden wir im Institut für Mikrobiologie und experimentelle Therapie, Jena, freundlichst Hilfe und Gerät. Dem Direktor des Institutes, Herrn Prof. Dr. KNÖLL, und seinem wissenschaftlichen Mitarbeiter für Elektronenmikroskopie, Herrn Dr. NIKLOWITZ, sind wir hierfür sehr zu Dank verpflichtet.

Zusammenfassung

Die Abhandlung beschreibt licht- und elektronenmikroskopische Beobachtungen der Chloroplasten gesunder und chlorotischer Gewebe von *Zea mays*. Es werden dabei eine Mangelchlorose junger wachsender und eine funktionelle Chlorose physiologisch alter und vergilbender Blätter unterschieden.

Bei der Mangelchlorose junger Blätter unterbleibt die Bildung der Grana und Granastapel. Überschreitet das Chlorotisieren junger Blätter die Grenze des Stadiums der Pathogenese, in der noch ein „Wiederergrünen nach GRIS" möglich ist, dann sind in den krankhaften Chloroplasten Globuli stark osmophiler Substanz zu finden. In den Plastiden mangelchlorotischer junger Blätter von *Zea mays* ist die Bildung der Stromalamellen stark gehemmt. Die Globuli können in Klumpen zusammengeballt sein, dabei scheinen einzelne Stromalamellen sie zu verbinden.

Bei der funktionellen Chlorose altersvergilbender Blätter verschwinden die Grana und Granastapel. An den Stellen der Granastapel erscheinen in ähnlicher Reihe Globuli stark osmophiler Stoffe. Die Stromalamellen der

Plastiden werden in der Alterschlorose zunehmend undeutlicher und im Innern sowie am Rande der Plastiden entstehen elektronenoptisch leere Räume, die wie Zerklüftungen und Korrosionen aussehen, deren Natur aber nicht erklärt werden kann.

Summary

The study reports observations with the light and electron microscopes on the chloroplasts of healthy and chlorotic tissues of *Zea mays*. It was possible to distinguish a chlorosis of young leaves due to deficiencies and a functional chlorosis of physiologically old and yellowing leaves.

In the deficiency chlorosis of young leaves the grana and grana stacks fail to form. If the chlorosis of the young leaves exceeds the limits of the pathogenic condition in which a return to the green state according to Gris is possible, then globules of strongly osmophilic substance are found in the diseased chloroplasts. In the plastids of young leaves of *Zea mays* suffering from deficiency chlorosis the formation of stroma lamellae is strongly retarded. The globules may be collected together in clumps, in which case they seem to be connected by single stroma lamellae.

In the functional chlorosis of yellowing old leaves the grana and grana stacks disappear. In their place globules of strongly osmophilic substance appear in the corresponding positions. The stroma lamellae of the plastids become progressively less clearly defined in age chlorosis and both in the centre and at the periphery of the plastids electronoptically empty spaces develop; these appear like fissures and corrosions, the nature of which however can not be explained.

Literaturverzeichnis

Breslawetz, L., 1926: Die Entwicklung und allmähliche Degeneration der Plastiden in Blättern einiger Arten während des Sommers. Z. Zellforschg. u. mikrosk. Anat. **3**, 38—43.

Frey-Wyssling, A., F. Ruch und X. Berger, 1955: Monotrope Plastidenmetamorphose. Protoplasma **45**, 97—114.

— —, und E. Kreutzer, 1958 a: Die submikroskopische Entwicklung der Chromoplasten in den Blüten von *Ranunculus repens* L. Planta **51**, 104—114.

— —, and — —, 1958 b: The submicroscopic development of chromoplasts in the fruit of *Capsicum annuum* L. J. ultrastructure res. **1**, 397—411.

Grave, G., 1954: Studien über die Entwicklung der Chloroplasten bei *Agapanthus umbellatus*. Protoplasma **44**, 273—298.

Griessmeyer, H., 1930: Über experimentelle Beeinflussung des Eisens im Chloroplasten. Planta **11**, 331—358.

Gris, A., 1857: Recherches microscopiques sur la chlorophylle. Ann. Sci. naturelles IV. (Bot.) **7**, **8**, 201—219.

Heitz, E., 1957: Die Struktur der Chondriosomen und Plastiden im Wurzelmeristem von *Zea Mais* und *Vicia faba*. Z. Naturforschg. **12 b**, 283—286.

Hodge, A. J., M. Branster, E. M. Martin, R. K. Morton, J. D. McLean and F. V. Mercer, 1956: Effects of the physical environment on some lipoprotein layer systems and observations on their morphogenesis. J. biophys. biochem. cytol. Suppl. **2**, 221—227.

— —, J. D. McLean and F. V. Mercer, 1955: Ultrastructure of the lamellae and grana in the chloroplasts of *Zea mays* L. J. biophys. biochem. cytol. **1**, 605—614.

— —, — —, 1956: A possible mechanism for the morphogenesis of lamellar systems in plant cells. J. biophys. biochem. cytol. **2**, 597—608.

Jacobson, L., and J. J. Oertli, 1956: The relation between iron and chlorophyll contents in chlorotic sunflower leaves. Plant Physiol. **31**, 199—204.

Lindner, H., 1959: Die lichtabhängige Vakuolisation der Chloroplasten in Nikotinlösungen. Protoplasma **51**, 91—111.

Mazé, R., 1911: Sur la chlorose expérimentale du mais. C. R. Acad. Sci. Paris **153**, ?, 902—905.

Menke, W., 1957: Artefakte in elektronenmikroskopischen Präparaten. I. Anisotrope Volumenänderungen von Chloroplasten. Z. Naturforschg. **12 b**, 654—659.

Mercer, F. V., A. J. Hodge, A. B. Hope and J. D. McLean, 1955: The structure and swelling properties of Nitella chloroplasts. Austr. J. sci. Res. (ser. B) **8**, 1—18.

Meyer, A., 1917: Das ergastische Organeiweiß und die vitülogenen Substanzen der Palisadenzellen von *Tropaeolum majus*. Ber. dtsch. bot. Ges. **35**, 658—673.

Molisch, H., 1918: Über die Vergilbung der Blätter. Sitz. Ber. Akad. Wiss. Wien, math.-nat. Kl. **127**, Abt. 1, 3—34.

Niklowitz, W., 1958: Zur Fixierung und Einbettung von Mikroorganismen für die Herstellung ultradünner Schnitte. Naturwissenschaften **45**, 167—168.

Noll, A., 1954: Histologische Untersuchungen über den Rostbefall verschieden anfälliger Getreidesorten, mit besonderer Berücksichtigung von *Puccinia simplex* auf Gersten. Zbl. Bakt., 2. Abt., **108**, 282—311.

Palade, G. E., 1952 a: A study of fixation for electron microscopy. J. exper. med. **95**, 285—297.

Rhoades, M. M., and A. Carvalho, 1944: The function and structure of the parenchyma sheath plastids of the Maize leaf. Bull. Torrey bot. Club **71**, 335—346.

Sachs, J. V., 1863: Beiträge zur Physiologie des Chlorophylls. Flora **46**, 193—204.

Schneider, H., und A. Zimmermann, 1922: Botanische Mikrotechnik. Jena.

Schropp, W., 1951: Der Vegetationsversuch. I. Die Methodik der Wasserkultur höherer Pflanzen. Radebeul u. Berlin.

Schürhoff, P. N., 1924: Die Pathologie der Plastiden. In Linsbauers Handb. Pfl.anat. Bd. 1*, 157—196.

Graebner, P., 1924: In Sorauer: Handbuch der Pflanzenkrankheiten. Berlin, 328—331.

Tswett, M., 1908: Über die Verfärbung und die Entleerung des absterbenden Laubes. Ber. dtsch. bot. Ges. **26 a**, 88—93.

Wartenberg, H., 1954: Über die Ursachen der Chlorose bei Pflanzen. Wiss. Z. Univ. Halle, Math.-nat. Reihe, **3**, 99—100.

Wettstein, D. v., 1957 a: Chlorophyll-Letale und der submikroskopische Formwechsel der Plastiden. Exp. cell res. **12**, 427—506.

— —, 1957 b: Genetics and the submicroscopic cytology of plastids. Hereditas **43**, 303—317.

Willstätter, R., und A. Stoll, 1918: Untersuchungen über die Assimilation der Kohlensäure. Berlin.

Zimmermann, A., 1893: Beiträge zur Morphologie und Physiologie der Pflanzenzelle. Bd. 1, Tübingen.

From Plant Pathology Laboratory, Faculty of Agriculture,
Nagoya University, Anzyo, Aichi-Ken (Japan)

The nucleic acids concentrations in mulberry leaves as affected by dwarf disease[1])

By

Y. Takamura[2]), T. Shimomura and T. Hirai

With 5 figures

Introduction

Mulberry dwarf disease is prevalent in Japan and has been well-known since the beginning of this century. The damage due to this disease is considered very serious and, therefore, extensive studies concerning its cause, mode of transmission, diagnostic procedures, environmental factors relating to occurrence and so on, are now progressing. The results of these studies indicate that this disease is probably caused by a virus.

An increased amount of nucleic acid in virus-infected plants as compared with healthy plants has already been demonstrated. Shimomura and Hirai (1956) showed that detached tobacco or tomato leaves inoculated with tobacco mosaic virus (TMV) contained 20—50 percent more ribonucleic acid (RNA) phosphorus at 24—48 hours after inoculation than uninoculated leaves. Paul (1957), using a spectrophotometric method, concluded that the RNA concentration in the leaves of intact tobacco plants which had been infected with TMV or potato virus X was always higher than that in respective leaves, having the same location on the stems, of uninfected plants.

This paper shows that the results obtained above are not applicable to all virus diseases, and some accounts for this discrepancy are also presented.

Materials and methods

Naturally infected mulberry trees, varieties Takashima, Kokuso No. 27, Kairyo-Nezumigaeshi, and Rohachi, grown in Toyokawa Sericultural Experiment Station were mostly used. The percentages of infection of the foregoing two varieties were 51.3 and 38.7, respectively. Apparently healthy and infected trees were selected with caution for sampling. From one branch

1) Contribution No. 44, Plant Pathology Laboratory, Nagoya University. This work was supported by a grant in aid from the Scientific Research Expenditure of the Ministry of Agriculture and Forestry of Japan.

2) Present address: Kanesho Agricultural Chemicals Co., Marunouchi Building, Tokyo.

of these trees all the leaves were removed, and they were divided into three or four groups, namely, top, middle (upper middle, lower middle), and bottom, according to their location on the branches. In order that each group contains 4—8 leaves, the excess leaves were discarded. Leaves of 1.0 g green weight belonging to each group were homogenized with 70 percent ethanol and were analyzed for nucleic acids (ribonucleic acid, RNA; and desoxyribonucleic acid, DNA) concentrations by the method of OGUR and ROSEN (1950). The amount of total nucleic acid (NA) or DNA is represented by the optical density at 260 mμ or by the difference of optical densities at 260 mμ and at 290 mμ, per unit wet weight.

Results

Figure 1 shows the optical density curves, from 230 to 310 mμ, of the nucleic acids extracted from the top young leaves of healthy or infected trees. It was evident that the maximum absorption was at a wavelength of 260 mμ, and the RNA concentration in healthy trees was higher than that in infected trees in both varieties tested. Also, the RNA concentration was 3—5 times as much as that of the DNA.

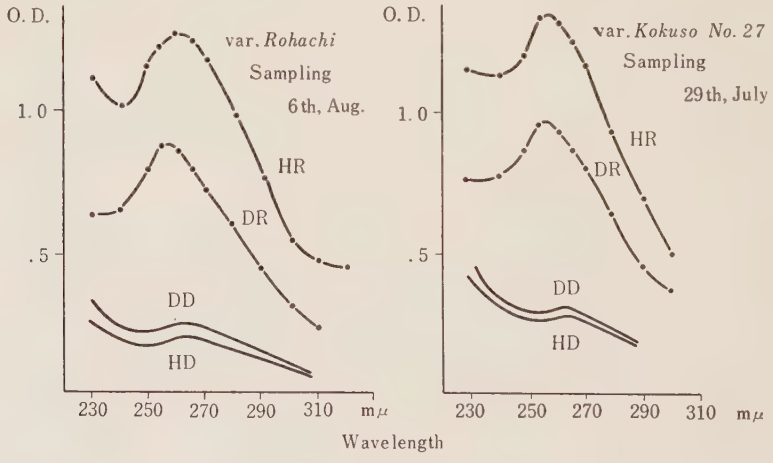


Fig. 1. Ultraviolet absorption spectra of the nucleic acids extracted from the young top leaves of healthy or dwarf-infected mulberry trees. HR: healthy leaves, RNA, DR: infected leaves, RNA, HD: healthy leaves, DNA, DD: infected leaves, DNA

The nucleic acids concentrations in leaves of each group were compared between the healthy and infected trees at the end of July, the most vigorously growing stage of mulberry. The results are shown in figure 2. Despite the minor differences between the two varieties, it may be confirmed that, in healthy trees, the top leaf-group contains the highest NA concentrations, and that the lower the leaf location, the lower the NA concentrations become except in the very bottom leaves where an increase again may be observed. In contrast, this trend was not so clear in the case of infected trees; rather,

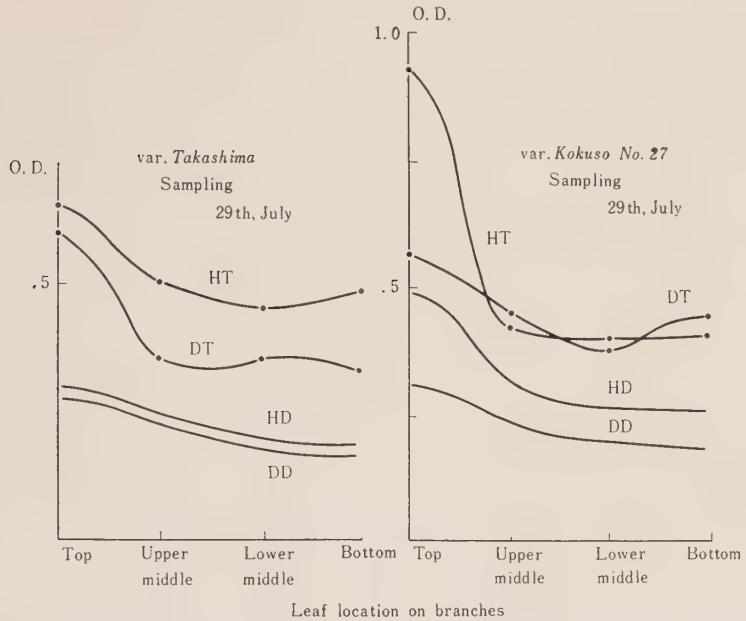


Fig. 2. Comparison between nucleic acids concentrations in leaves having different locations on the branches of healthy and dwarf-infected mulberry trees (optical density at 260 mμ). HT: healthy leaves, total nucleic acid, DT: infected leaves, total nucleic acid, HD: healthy leaves, DNA, DD: infected leaves, DNA

it seemed that all the leaf-groups had almost the same concentrations irrespective of the leaf age, although the top-group still showed a slightly stronger concentration. The DNA in the leaves was relatively more concentrated, and this concentration in healthy leaves exceeded that in infected leaves.

In addition to the dwarf disease, a mosaic disease of mulberry trees may be found all over Japan. This mosaic disease displays the typical mosaic symptom of wrinkled and mottled leaves and differs from the dwarf disease symptoms of which are dwarfish trees having yellow and malformed leaves. Sampling from this mosaic disease, the NA concentrations in each of the leaf-groups were determined. The above-mentioned tendency was most clearly demonstrated as seen in figure 3. That is, high NA concentrations in the top-group of healthy trees, and, in the infected trees, nearly the same concentrations throughout the different leaf ages were observed.

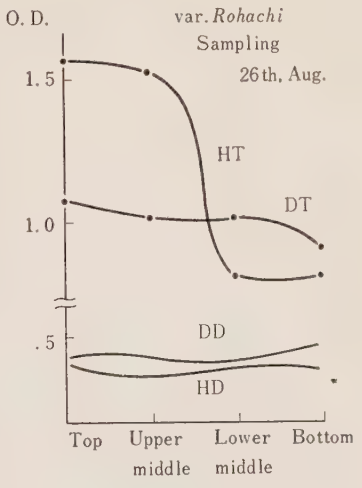


Fig. 3. Comparison between nucleic acids concentrations in leaves having different locations on the branches of healthy and mosaic-infected mulberry trees. (Optical density at 260 mμ.) Abbreviation, see Fig. 2

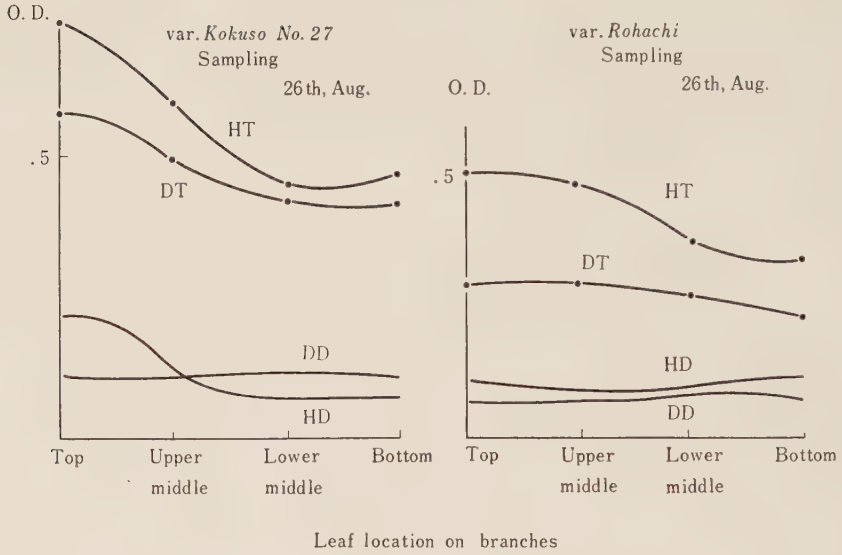


Fig. 4. Comparison between nucleic acids concentrations in leaves having different locations on the branches of healthy and dwarf-infected mulberry trees (difference of optical densities at 260 mμ and at 290 mμ). Abbreviation, see Fig. 2

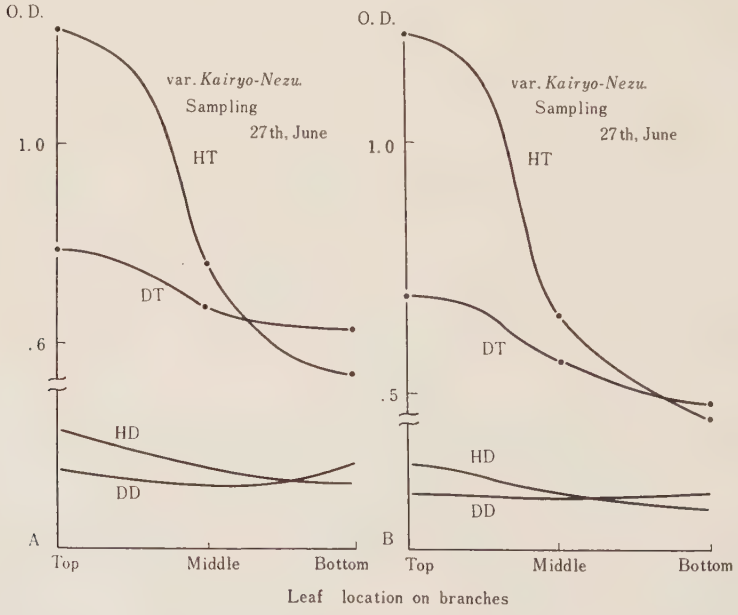


Fig. 5. Comparison between nucleic acids concentrations in leaves having different locations on the branches of healthy and dwarf-infected mulberry trees. (A) Healthy and infected leaves were taken from different trees. (B) Apparently healthy and infected leaves were taken from different branches of the same tree (optical density at 260 mμ). Abbreviation, see Fig. 2

At the end of August, the vegetative growth period of mulberry trees elapses and they reach the maturity of that growth period. At this stage the NA concentrations also were estimated as before. The results are given in figure 4. The tendency mentioned previously became obscure; however, high NA concentrations still were detectable in healthy leaves as compared with infected leaves.

At the beginning of the next summer, 1958, the NA concentrations in the early growing stage of mulberry trees were determined. Figure 5 (A) shows a typical result of the experiment. It is a common occurrence to develop apparently healthy shoots from dwarf-infected trees and as these shoots remain free from the infection throughout the growing stages, both dwarf and apparently healthy branches are seen growing from the same tree simultaneously. The NA concentrations in the leaves of these apparently healthy and infected branches, belonging to the same tree, were also examined and the results as shown in figure 5 (B) were obtained. These two figures are in complete accord with the previous results.

The dry matter percentages of the leaf blades of healthy and infected trees, in this stage, were 23.3 and 34.2 percent, respectively. The infected leaves usually contained much more dry matter, ranging from 118 to 146 percent of the healthy leaves. Accordingly, lower NA concentrations in the top leaf-group of infected trees, which were based on the green weight, will be increasingly recognizable if the base is taken as the dry weight. Thus, the same trend in NA concentrations was confirmed at each growing stage of mulberry trees.

Discussion

The differences in the NA concentrations between healthy and infected trees may be due partly to those differences among individuals, since the samples used for comparison were taken from different trees. Although mulberry trees, of the same variety having the same age and grown in the same manurial soils, were selected with attention, it was difficult to ascertain completely trees having the same physiological state, because the infected trees were stunted in growth and their leaves were shrunken. For this reason, accurate investigations upon the effect of virus infection may be unsuccessful; however, the same tendency in the NA concentrations was evident when the apparently healthy and infected branches growing from the same tree, which generally was considered to be in a physiologically identical state, were examined. The infected leaves contained less water than the uninfected leaves and the values based upon green weight of the infected leaves may not be comparable to those of the healthy leaves which contained much more water. In spite of this, if the NA concentrations in the infected leaves are equal to, or much lower than, those of the healthy leaves, lower concentrations in the former will be established.

In mulberry dwarf disease, low NA concentrations in the infected leaves, especially in those of the top group, were thus generalized. This finding seems to be inconsistent with the results obtained previously, which show high RNA concentrations in infected plants. Normal nucleic acid to-

gether with virus nucleic acid should be involved in the infected leaves. The major portion of the increased amounts of nucleic acid in inoculated leaves has been explained by an increase in the newly formed virus (Shimomura and Hirai 1956). This increase in the total amount of nucleic acid may lead to the conclusion that normal nucleic acid does not decrease very much by mosaic infection, probably due to only a slight disturbance of the metabolic activity. Synthesized virus nucleic acid is added to normal nucleic acid, higher NA concentrations in the infected leaves will occur.

The nature of the virus in mulberry dwarf disease has as yet remained unknown. Furthermore, it has not been determined what amount of virus nucleic acid may be extracted by the method of Ogur and Rosen; however, if virus nucleic acid is removed from the total nucleic acid, the non-virus nucleic acid concentration in infected mulberry trees will be much lower than that in healthy trees. This decrease in the amount of normal nucleic acids may reflect a decline in the metabolic synthesis of the plants affected by the yellow-type viruses.

Summary

Nucleic acids (NA) concentrations in the mulberry leaves affected by dwarf disease were determined. In healthy trees, high NA concentrations in the young top leaves were observed. As the location of the leaves on the branches became lower, the NA concentration in the leaves decreased. In infected trees, almost the same concentrations throughout the different leaf ages were noticeable. Therefore, in general, the top leaves in infected trees contained lower NA concentrations than in healthy trees. Some considerations to interpret this fact are presented together with studies on plants infected with the mosaic-type viruses.

Zusammenfassung

Wir haben den Nukleinsäuregehalt in von der Verzwergungskrankheit befallenen Maulbeerblättern gemessen. Bei einem gesunden Maulbeerbaum wurde beobachtet, daß die Blätter mit hoher Insertionshöhe viel Nukleinsäure enthielten. Je höher die Insertionshöhe wird, desto mehr Nukleinsäure enthalten die Blätter. Je niedriger die Höhe wird, um so geringer wird der Nukleinsäuregehalt. Bei den infizierten Bäumen wurde beobachtet, daß in verschiedenen Insertionshöhen der fast gleiche Nukleinsäuregehalt vorherrschte. Bei den infizierten Bäumen haben also die Blätter in der Spitze im allgemeinen geringeren Nukleinsäuregehalt als bei den gesunden Bäumen. Einige der Beobachtungen werden mit Resultaten von mit Tabakmosaik-Virus infizierten Pflanzen verglichen.

Literature cited

Ogur, M., and G. Rosen, 1950: Nucleic acids of plant tissues. I. Extraction and estimation of desoxypentose nucleic acid and pentose nucleic acid. Arch. Biochem. **25**, 262—276.

Paul, H. L., 1957: Spektralphotometrische Untersuchungen über die Virusvermehrung in Tabak. Phytopath. Z. **28**, 307—318.

Shimomura, T., and T. Hirai, 1956: Nature of virus infection in plants. II. Changes in the amounts of phosphorus compounds of leaves in various fractions during infection. Virus (Osaka) **6**, 394—401.

Section of Virology, Instituto Agronômico, Campinas, Brazil

Comparative studies between *Abutilon* and *Euphorbia* mosaic viruses

By

A. S. Costa and Ana Maria B. Carvalho

With 10 figures

Table of contents: I. Introduction. — II. Material and Methods. — III. Cross inoculation tests. A. With the insect vector. B. Mechanical transmission. — IV. Comparative host range. — V. Description of symptoms induced on some host plants by the two viruses. — VI. Physical properties of the two viruses. — VII. *Bemisia tabaci* can carry the AMV and EMV simultaneously. — VIII. Cross protection tests. — IX. Comparison between *Euphorbia* mosaic and *Abutilon* mosaic with other local virus diseases. — X. Discussion. — Summary. — Zusammenfassung. — Literature cited.

I. INTRODUCTION

Considerations on the relationship between *Abutilon* mosaic virus (AMV) from native *Malvaceae* and *Euphorbia* mosaic virus from *Euphorbia prunifolia* Jacq. in Brazil were made in two previous publications (7, 8). They were motivated by the following facts: (a) The type of mosaic symptoms induced on *Sida* spp. by the AMV and on *Euphorbia prunifolia* by EMV, present a remarkable degree of similarity; (b) the two viruses have the same insect vector, *Bemisia tabaci* Genn. (8, 18); (c) both viruses occur in the same areas of the state of São Paulo.

In spite of the above-mentioned similarities that were suggestive of the possible identity of the two viruses, all experiments then carried out indicated that they were not identical.

Since doubts about the non-identity of the two viruses still persisted, it was thought desirable to start a new series of comparative experiments with them. The results of the latter and some data obtained in past, unpublished experiments are reported in this paper. They confirm the previous viewpoint already stated and show that the differences found between the two viruses constitute evidence indicating that they are not identical. It seems that if a relationship between the two viruses exists, it is not a very close one.

II. MATERIAL AND METHODS

The test plants used in the experiments were raised in the usual manner in a greenhouse and sprayed at regular intervals to be kept reasonably free from insects and mites. The seedlings were set 2 to 4 in 8-inch, painted aluminium pots.

Non-viruliferous white flies, *Bemisia tabaci*, were reared on healthy *Euphorbia prunifolia* seedlings or on healthy *Sida* plants, which were confined in insect cages. The non-viruliferous stock flies were caged on diseased plants for 48 hours to acquire virus.

Large populations of viruliferous insects were reared in small insectaries on *Euphorbia prunifolia* plants affected by EMV or on *Sida* and *Malva* species affected by AMV. Plants to be inoculated by heavy populations of viruliferous vectors were exposed to them in the insectaries. The test feeding usually lasted 2 days, but in some cases the test plants were left in the insectaries for a week. During the period the test plants remained in the insectaries, the diseased plants on which the white flies were bred were shaken several times a day to induce migration of the insects towards the plants to be inoculated.

Transfers of insects onto test plants were made by means of a slightly modified sucking device that permitted the white flies to be sucked from the stock colonies and blown back into lamp chimneys or other types of cages placed on the test plants. After the test feeding the insects on the test plants were killed by an insecticidal spray and the plants were taken to the greenhouse for further observations.

Diagnosis of infection was based in most cases on the observation of symptoms displayed by the inoculated plants. When symptoms failed to appear or when it was of interest to do so, attempts were made to recover virus from the inoculated plants by mechanical inoculation or by means of the insect vector.

III. CROSS INOCULATION TESTS

A. With the insect vector

The results from tests in which groups of non-viruliferous white flies were fed parallelly on the two virus sources and then transferred onto the test plants are presented in table 1. They are clear-cut and show that the non-viruliferous vectors bred either on *Euphorbia prunifolia* or on species of *Sida* when fed on diseased *Euphorbia prunifolia* transmitted EMV to this species and to *Datura stramonium* L., but failed to induce systemic symptoms of mosaic on species of *Sida*. Infection of *Datura stramonium* with the number of insetcs per plant used was high. On the other hand, non-viruliferous white flies from the same two sources fed on diseased (AMV) *Sida micrantha* St. Hil. transmitted the virus to *Sida micrantha* and *Sida rhombifolia* L., but induced no symptoms on *Euphorbia prunifolia*. Infection of *Datura stramonium* was very low. The results also indicated that the EMV

Table 1

Results of cross inoculation tests
in which groups of non-viruliferous white flies were fed separately on the two virus sources and then caged on the test plants

Test[1]) No.	Number of plants inoculated and infected when the non-viruliferous white flies were fed on the indicated virus source and then caged[2]) on the following test plants											
	Sida micrantha			*Sida rhombifolia*			*Euphorbia prunifolia*			*Datura stramonium*		
	IN	INF		IN	INF		IN	INF		IN	INF	
		AMV	EMV		AMV	EMV		AMV	EMV		AMV	EMV
1	12	5	0	12	5	0	12	0	12	10	0	7
2	10	6	0	10	5	0	6	0	6	10	0	6
3	6	2	0	6	4	0	12	0	10	4	0	3
4	5	4	0	10	3	0	10	0	8	10	1	4
5	5	4	0	10	5	0	10	0	9	10	0	6
Total	38	21	0	48	22	0	50	0	45	44	1	26

1) Tests 1, 3 and 5 were carried out with non-viruliferous vectors bred on *Sida* species; tests 2 and 4, with insects bred on *Euphorbia prunifolia*.
2) At the rate of 10—20 insects per plant.
IN = inoculated; INF = infected.

Table 2

Results of tests
in which the test plants were exposed to heavy populations of viruliferous white flies bred on plants infected with AMV or EMV

Test plant	Virus source	Number of plants that showed systemic symptoms out of 10 exposed to the white flies carrying the indicated virus in each of 4 tests				Total
		1	2	3	4	
Datura stramonium ...	AMV	3	1	1	10	15
	EMV	10	9	10	9	38
Euphorbia prunifolia .	AMV	0	0	0	0	0
	EMV	10	10	9	10	39
Nicandra physaloides .	AMV	9	4	8	10	31
	EMV	0	0	0	1	1[a,b]
Sida micrantha	AMV	10	10	10	10	40
	EMV	0	0	0	0	0[b]
Sida rhombifolia	AMV	10	10	5	10	35
	EMV	0	0	0	0	0[b]

a) One plant showed systemic necrotic symptoms and died.
b) Many plants showed local symptoms.

is more easily transmitted by *Bemisia tabaci* to *Euphorbia prunifolia* and *Datura stramonium* than is AMV to the two species of *Sida* and to *Datura stramonium.*

In another series of experiments the same test pants and *Nicandra physaloides* Gaertn. were exposed to heavy populations of viruliferous vectors bred on diseased plants. The infection results obtained with either virus are presented in table 2. Again, they show that practically all healthy seedlings of *Euphorbia prunifolia* became diseased when submitted to the feeding of the white fly population bred on diseased *Euphorbia prunifolia.* None of the same seedling species showed symptoms of mosaic when submitted to the feeding of white flies bred on diseased *Sida* spp. (AMV).

Seedlings of *Datura stramonium* were much more easily infected when submitted to the feeding of the viruliferous white fly population carrying the EMV than when exposed to the vector population carrying AMV. Moreover, the symptoms of disease induced by the EMV were different from those caused by the AMV, being more severe.

Test plants of *Sida micrantha* and *Sida rhombifolia* became systemically infected when submitted to the feeding of the white fly population bred on diseased *Sida* spp. (AMV), showing typical symptoms of the disease. Comparable plants submitted to the feeding of the viruliferous population carrying the EMV showed no systemic symptoms of disease, although what corresponds to local lesions of the chlorotic or necrotic types was observed on leaves on which the insects fed. Virus was recovered from these lesions, but systemic symptoms were never shown by these plants nor could virus be recovered from their young growth.

B. Mechanical transmission

It was already mentioned (8) that the *Euphorbia* mosaic virus could be transmitted mechanically, although the results then obtained were rather poor. In more recent experiments, using somewhat older jimson weed test plants, it has been possible to obtain practically 100 per cent transmission in most runs. Local lesions suitable for counts were obtained on this species and this facilitated the study of the virus properties (10).

One of the writers has reported negative results in the mechanical transmission of the AMV from native *Malvaceae* to various plants (7). More recently, however, the use of some untried species of *Malva* as test plants (9) has made it possible to obtain mechanical transmission of AMV with a high degree of success.

In cross inoculation tests by mechanical methods, EMV inoculum was obtained from recently infected *Datura stramonium* unless mentioned otherwise; and AMV from *Malva parviflora* L. Virus from the two sources was used to inoculate some host plants of the two viruses. The results of the tests are in table 3. They indicate that EMV was rather easily transmitted mechanically to *Datura stramonium,* but not to *Euphorbia prunifolia* when the virus source was *Datura stramonium. Euphorbia prunifolia* seedlings were, however, infected mechanically with EMV when the virus inoculum

was obtained from diseased *Euphorbia prunifolia*. Neither representatives of *Malvaceae* nor *Nicandra physaloides* were infected. When comparable test plants were inoculated with AMV both *Malva parviflora* and *Malva* sp. showed a fair percentage of infection. Only in a reduced number of cases *Sida micrantha* and *Nicandra physaloides* were infected by the AMV mechanically. None of the seedlings of *Euphorbia prunifolia* nor *Datura stramonium* could be infected mechanically with AMV in the experiments described.

Table 3

Results of comparative tests
in which AMV and EMV were inoculated mechanically onto various host plants

Test plant	Virus source	Number of plants infected out of 10 that were inoculated with the indicated virus in each of 3 tests			Total
		1	2	3	
Datura stramonium	AMV	0	0	0	0
	EMV	10	10	10	30
Euphorbia prunifolia	AMV	0	0	0	0
	EMV	0	0	0	0
	EMV[1])	5	4	6	15
Malva parviflora	AMV	4	6	8	18
	EMV	0	0	0	0
Malva sp.	AMV	3	4	6	13
	EMV	0	0	0	0
Nicandra physaloides	AMV	3	0	1	4
	EMV	0	0	0	0
Sida micrantha	AMV	1	0	0	1
	EMV	0	0	0	0

[1]) In this test EMV inoculum was obtained from *Euphorbia prunifolia*. In the other tests this virus was extracted from *Datura stramonium*.

In another series of tests, *Datura stramonium* seedlings were inoculated mechanically with EMV obtained from plants of the same species; comparable seedlings were rubbed with AMV obtained from *Malva parviflora*, jimson weed, tobacco (*Nicotiana tabacum* L.), *Nicotiana debney* Domin., and *Nicotiana glutinosa* L. The results were, as follows: all 60 *Datura stramonium* seedlings inoculated with EMV became diseased; 4 of the 92 seedlings inoculated with AMV from *Malva parviflora* were infected; 5 out of 24 were infected with AMV from jimson weed; 2 out of 46 with AMV from tobacco; none out of 2 with AMV from *Nicotiana debney*, and none out of 20 with AMV from *Nicotiana glutinosa*.

IV. COMPARATIVE HOST RANGE

Studies on the host range of the EMV and AMV have been carried out over a period of years. More recently these studies were undertaken simultaneously, that is, batches of test plants were divided in two groups and exposed to the viruliferous white fly populations carrying either virus.

It has been shown that the AMV can infect several legume plants, some *Solanaceae*, a number of *Malvaceae* and representatives of a few other families (4, 7, 21, 22). This virus thus has a much wider host range than it was believed in the past. The EMV can also infect plants of several families and in this respect it is rather similar to the AMV. However, many of the plants infected systemically with AMV will show in most cases only local infection when inoculated with the EMV, so that the host range of

Table 4

A list of test plants

that were compared as to their susceptibility to the *Abutilon* and *Euphorbia* mosaic viruses in inoculation tests with the insect vector

Species	EMV				AMV			
	No. of tests	Plants			No. of tests	Plants		
		Inoc.	L	S		Inoc.	L	S
Arachis hypogaea L.	3	95	+	0	5	162		18
Canavalia ensiformis D. C.	2	30	+	4	3	45	+	33
Cyamopsis tetragonalobus (L.) Taub.	1	5		0	2	28	+	9
Datura stramonium	12	126	+	95	12	138		15
Glycine max (L.) Merr.	3	102	+	79	6	289		261
Gossypium barbadense L.	2	130	+	0	2	180	+	10[a]
Gossypium hirsutum L.	2	100	+	0	2	100	+	83
Hibiscus esculentus L.	3	26	+	0	4	51		33
Lens esculenta Moench.	1	8		8	1	50		38
Lupinus albus L.	1	10		0	1	20		4
Lycopersicon esculentum Mill.	7	106		106	5	80		49
Malva parviflora	2	20	+	0	2	20		20
Malva silvestris L.	1	2		0	1	2		2
Nicandra physaloides	4	40	+	1	8	65		52
Nicotiana glutinosa	2	10		3	2			4
Nicotiana tabacum	5	80	+		3	70	+	41
Phaseolus vulgaris L.	2	67	+	4	2	67	+	55
Pisum sativum L.	1	10		0	1	30		8
Sida bradei Ulbricht	1	8		0	1	8		8
Sida micrantha	9	100	+	0	9	110		101
Sida rhombifolia	10	106	+	0	10	96		88
Solanum tuberosum L.	4	90		0	6	53		41

[a]) Var. *Tanguis*.

the latter virus in greenhouse studies or in the field as judged by the systemic symptoms is bound to be narrower than that of the former. In table 4, a selected list of host plants of the two viruses has been arranged in alphabetical order.

V. DESCRIPTION OF SYMPTOMS INDUCED ON SOME HOST PLANTS BY THE TWO VIRUSES

Datura stramonium

Jimson weed plants are very susceptible to the EMV, both when inoculated by the vector or mechanically. When plants of this species are inoculated mechanically, they develop local chlorotic or sightly necrotic lesions, usually within 3 to 5 days after inoculation. Local symptoms are followed by vein clearing, rolling, or arching of the young leaves or, occasionally, of the inoculated leaves too. Old infected plants show vein yellowing or light brown vein streak, curling, crinkling, and severe stunting. Young seedlings do not react with so many local lesions as plants that already have fully developed leaves. The symptoms following inoculation by the vector are identical to those described except that local lesions are fewer.

A common green strain of *Datura stramonium* and another that shows purplish stems and flowers (var. *tatula*) were heavily inoculated by populations of viruliferous white flies carrying the AMV. Contrary to previous results (7), infection of some of the jimson weed plants resulted, thus confirming the observations of Flores and Silberschmidt (12). The disease induced on jimson weed by the AMV was distinct from that resulting from infection with EMV. The symptoms were of a much milder degree and consisted of a week type of mosaic formed by large, light green or slightly yellowish green areas, accompanied by little crinkling.

Mechanical inoculation of *Datura stramonium* with the AMV was mostly negative, but succeeded in a few instances when inoculum was taken from *Malva parviflora,* tobacco, or other good virus sources.

Glycine max

Infection of soybean plants with the EMV obtained by means of the vector resulted in symptoms that resembled those caused by the AMV on beans. The plants became stunted and the old leaves turned darker green than normal leaves. New growth formed after the shock effect showed leaves reduced in size and with mosaic and severe crinkling symptoms.

Soybean varieties infected with AMV showed mosaic and crinkling on the leaves. The reaction was milder than that on bean varieties infected with the virus and also milder than the reaction induced by the EMV on the same soybean varieties.

Gossypium spp.

Both *Gossypium barbadense* and *Gossypium hirsutum* plants inoculated with the EMV by means of the vector developed numerous necrotic lesions

(Fig. 1) at the feeding punctures, but no systemic symptoms were later shown by such plants.

When plants of Upland cotton (*Gossypium hirsutum*) were inoculated with the AMV by means of the vector they developed yellow spots or slightly necrotic markings on the leaves on which the insects fed. Systemic symptoms were similar to those shown by other *Malvaceae* host plants and consisted of a bright yellow mosaic. Most varieties of *Gossypium barbadense* were highly resistant to the AMV. Many showed local yellow spots only, but when infected systemically they developed mosaic symptoms similar to those shown by *hirsutum* plants. The var. Tanguis was one of the *barbadense* group that showed most susceptibility to the AMV from those tried. No leaf curl symptoms or leaf enations were noticed on the *Gossypium barbadense* plants that had been inoculated with the AMVirus.

Hibiscus esculentus

The local markings following the feeding of white flies carrying either virus were very similar. They consisted of the clearing of short lengths of the veins and chlorotic spots, sometimes with a necrotic center. However, only those plants inoculated with the AMV presented systemic yellow mosaic symptoms. After the vectors were killed the leaves formed on those plants that had been inoculated with the EMV remained free from symptoms.

Lycopersicon esculentum

Tomato plants were more susceptible to EMV than to AMV. Plants infected with EMV showed vein mosaic (Fig. 2), strong rugosity, and crinkling. The affected plants became somewhat stunted.

The symptoms induced by the AMV on tomatoes were later to appear than those of EMV. The vein mosaic type of symptom was similar to that shown by plants affected by the other virus, but the light green or yellowish mosaic spots were larger. As a whole the symptoms induced by AMV were much milder than those caused by the EMV. Both the tomato disease caused by EMV and that produced by AMV seldom have been found in the field.

Malva parviflora

White flies carrying the EMVirus induced necrotic lesions at the feeding sites, but systemic invasion did not follow.

Local lesions may appear at the feeding sites as a result from inoculation of *Malva parviflora* by means of white flies carrying the AMV. The systemic symptoms showed by this species or by others of the same genus consisted of striking yellow mosaic limited by the veins or along them. Stunting and leaf malformation were present.

Nicandra physaloides

When seedlings of this species were exposed to a large population of white flies carrying the EMV, local lesions appeared on the leaves on which the insects fed. These local lesions were mostly necrotic (Fig. 3), occasionally

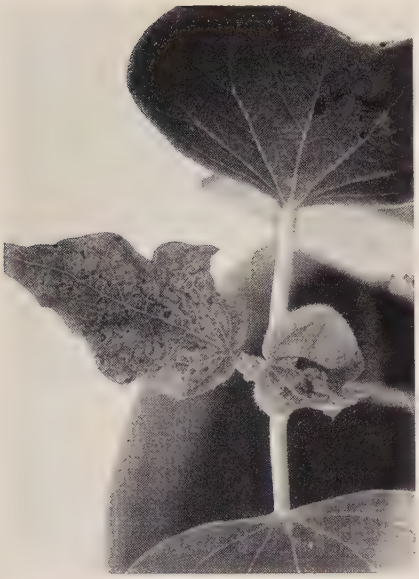


Fig. 1. Necrotic lesions that appear on cotton (*Gossypium hirsutum*) leaves following the feeding of white flies carrying the EMV

Fig. 2. Leaf vein yellowing resulting from infection of tomato plants with the EMV

Fig. 3. Necrotic lesions on *Nicandra physaloides* following the feeding of white flies carrying the EMV

Fig. 4. Yellow markings on a tobacco leaf on which white flies carrying the EMV fed

chlorotic with some necrosis in the center. Necrotic streaking seemed to result when the feeding was done along the larger veins. Systemic symptoms were not generally developed by the inoculated plants. In some instances, when very young seedlings were heavily inoculated, systemic necrosis resulted, almost killing the plant. In case of older plants, stem necrosis was also noted. The EMV could be recovered from the necrotic local and systemic lesions.

Nicandra physaloides was rather easily infected with the AMV by means of the vector. Infected plants showed strong mosaic, leaf malformation, and necrosis as was previously described (7).

Nicotiana glutinosa

Nicotiana glutinosa plants infected by EMV show vein clearing, chlorotic areas and curling of young leaves, accompanied by some necrotic spotting. Necrosis has been more severe on axillary sprouts of plants that were cut back after inoculation. The EMV was recovered from inoculated plants and more easily from the axillary sprouts with necrosis.

Inoculation of *Nicotiana glutinosa* plants with the AMV by means of the vector induced vein clearing followed by leaf curl symptoms. Infected plants became stunted. This species has also been a good test plant for mechanical inoculation with the AMV. In some tests *Nicotiana glutinosa* behaved as if it were more susceptible to mechanical inoculation with the AMVirus than in inoculations by the vector.

Table 5

Results from the inoculations of tobacco varieties with the EM and AM when the plants were exposed to viruliferous vectors in separate insectaries

Tobacco varieties tested	Number of plants inoc. with each virus	EMV		AMV	
		Plants that showed		Plants that showed	
		L	S	L	S
Amarelinho	20	12	0	?	18
Burley Campinas ..	20	20	0	2	19
Coker 139	15	13	9	?	15
Dixie Bright 101 ..	15	4	8	?	15
Goiano	25	1	0	?	6
Goiano NN-1	10	5	1	4	9
Goiano NN-2	10	1	1	?	5
Herval de Baixo ...	15	15	4	?	13
Maus	10	3	0	1	10
Sesmaria	15	5	0	3	15
Sumatra × Bahia ..	20	5	0	?	12
Turkish	15	0	0	?	2
Virginia I. A.-1	20	2	0	?	9
White Burley	20	20	0	4	18

L, S = Local and systemic symptoms.

Fig. 5. Tobacco plant (Dixie bright 101) infected by the EMV at a stage when a certain degree of recovery had taken place

Fig. 6. Leaf from a tobacco plant infected by the EMV, showing vein mosaic and chlorotic spots

Nicotiana tabacum

Tobacco varieties were inoculated with the EMV and AMV in order to permit a comparison of the symptoms induced by these viruses with those that have been described for other white-fly-transmitted viruses that affect the same plants. The results of the tests are in table 5.

The tobacco plants that were exposed to white flies carrying the EMV developed yellow dots or markings (Fig. 4) on most leaves on which the insects fed. These markings appeared about 8—12 days after inoculation. Systemic symptoms were not generally shown by tobacco plants that had been inoculated with the virus, but in some instances they did. When present the symptoms appeared as clearing of the veins (Fig. 5 and 6), followed by strong mosaic, blistering, crinkling, and slight malformation. A certain decrease in the severity of the symptoms was noticed as the plants aged. Recovery of the EMV from the systemically invaded tobacco plants was positive.

Comparable tobacco plants exposed simultaneously to white flies carrying the AMV only occasionally formed yellow dots on leaves fed upon by the vectors, and they were slower to appear than in the case of EMV. Systemic invasion was frequent, and the symptoms shown by the plants resembled those of tobacco leaf curl. Affected tobacco plants were stunted when compared with normal plants. The lower leaves showed yellow areas

(Fig. 7), but it was mostly the newer growth, formed after infection, that showed the most noticeable symptoms. These young leaves were generally distorted or otherwise malformed (Fig. 8). They presented curling or rolling of the edges downwards and were darker green than normal, with chlorotic areas (Fig. 9 and 10) interspaced. Although the leaf veins were distorted as described from Porto Rico (4), no leaf enations were noticed. A certain degree of recovery was shown.

Tobacco plants were in generally highly resistant to EMV when exposed to a heavy population of white flies carrying the virus. The same varieties were more susceptible to the AMV when inoculated under comparable conditions, but some of them such as Goiano NN-2, Sumatra × Bahia, and Turkish were resistant. It must be borne in mind, however, that heavy infestations with viruliferous vectors as those obtained in the inoculations described in this paper are extremely improbable to occur in nature. This is probably the explanation for the low incidence of the leaf curl symptoms that have been recorded in tobacco fields in São Paulo, in spite of the over all presence of infected *Sida* spp. and relative abundance of the vector. Tobacco plants infected with EMV in the field have not been recorded yet.

Fig. 7. Yellow spots associated with initial infection of tobacco plants with the AMV

Fig. 8.
Tobacco plants (Coker 139) infected with the AMV. Control plants on left

Phaseolus vulgaris

Bean plants exposed to white flies carrying the EMV showed necrotic streaking or spotting connected with the feeding punctures. Systemic symptoms were seldom developed by bean plants inoculated with the EMV, but when present they appeared as a few scattered necrotic lesions per leaf. These leaves became crumpled or twisted, due to death of tissue of the expanding leaves.

Most varieties of beans developed local yellow, more rarely necrotic, markings on the leaves on which the viruliferous white flies carrying the AMV had fed. They usually turned necrotic as they aged. Infected plants became severely stunted and leaves that were old at the time of inoculation showed some rolling and acquired a dark green color. After a while, axillary sprouts were developed which showed yellow mosaic spots, reduction of leaf size, leaf malformation, and curling. A total of 300 plants belonging to 13 bean varieties was inoculated with the AMV virus and infection was about 75 per cent.

Fig. 9. Tobacco plant (Dixie Bright 101) affected by the AMV after it had recovered from the initial acute stage

Fig. 10. Leaf from a tobacco plant affected with the AMV, showing a chlorotic pattern and some curling

Bean plants affected by the type of yellow mosaic and dwarfing induced by the AMV are found frequently in the field. Usually the number of affected plants is small, less than 5 per cent. In one instance the writers had the opportunity of surveying a commercial bean planting where the attack was nearly 50 per cent.

VI. PHYSICAL PROPERTIES OF THE TWO VIRUSES

Results of the tests to determine the physical properties of the EMV and AMV in vitro have been in part reported elsewhere (9, 10), but will be summarized here in table 6. They show that the two viruses behave

very similarly as to their physical properties in spite of the fact that those of the EMV were determined by means of a local lesion test plant and those of the AMV by the number of plants infected with the preparations.

Table 6

Comparison of the physical properties of the EMV and AMV

Property tested	EMV	AMV
Aging in vitro		
Water	> 72 hr	48—72 hr
Buffer plus Na sulfite	> 72 hr	48—72 hr
Thermal inactivation	55 °—60 °C	55 °—60 °C
Resistance to dilution	5—5	5—6

VII. *BEMISTIA TABACI* CAN CARRY THE AMV AND EMV SIMULTANEOUSLY

Since the AMV and EMV persist in the insect vector for several days (4, 8, 12), tests were carried out to verify whether or not the same individual insect could carry the two viruses simultaneously. In these experiments insects bred on plants infected by one of the viruses were transferred onto a plant infected by the other. After a 2-day aquisition feeding the insects were placed singly on adequate test plants for the second virus, and one day later transferred again to test plants for the first virus. The results of the

Table 7

Results of tests

to determine whether individual white flies (*Bemisia tabaci*) could carry the AMV and EMV simultaneously

Test No.	Number of white flies out of 20 that in each of 8 tests carried the AMV, EMV, or both when tested individually as indicated							
	Bred on the EMV source Aquisition feeding on AMV source				Bred on the AMV source Aquisition feeding on EMV source			
	AMV	EMV	AMV EMV	None	AMV	EMV	AMV EMV	None
1	1	8	0	11	1	3	0	16
2	1	1	4	14	2	4	7	7
3	4	4	1	11	1	6	0	13
4	1	7	4	8	—	—	—	—
5	3	8	3	6	—	—	—	—
6	0	14	4	2	—	—	—	—
7	4	8	5	3	—	—	—	—
8	0	15	1	4	2	10	1	7
	14	65	22	59	6	23	8	43

tests are in table 7. They were generally poor because transmission of the AMV by single white flies was generally low, about 21 per cent. Transmission of EMV by single white flies was nearly 49 per cent.

There were definite results indicating that some of the white flies were capable of carrying both viruses at the same time. It was noticed in two of the tests that the proportion of individual white flies that picked up and transmitted the two viruses was higher than that expected if transmission of the two viruses were independent events, thereby indicating that some of the flies were more efficient vectors than others. However, the over-all figures did not indicate that insects that transmitted the two viruses were in higher proportion than that to be expected by random if all insects were equally capable of transmitting the two viruses. The results observed in the two above—mentioned tests might be in some way connected with the age of the insects, since this factor was not checked, or then ability to transmit the two viruses is a characteristic genetically controlled that would lead to the existence of active and inactive insects as in the case of leafhopper vectors.

VIII. CROSS PROTECTION TESTS

The existence of common host plants of the *Abutilon* and *Euphorbia* mosaic viruses suggested that the relationship between the two viruses could be studied by cross protection tests. The soybean, tomato, and jimson weed seemed to be the most promising host plants for these tests. Both viruses induce systemic symptoms on the first two species, but these are difficult to infect mechanically so that the cross protection tests had to be carried out with the vector. Moreover, since the symptoms induced on the host plants were not extremely dissimilar, judgement on the establishment of the challenging virus had to be confirmed by recovery tests.

Tests with tomato and soybean

Groups of 10 seedlings of tomato and soybean were treated as follows: (a) inoculated with the AMV; (b) inoculated with the EMV; and (c) not inoculated. After symptoms became apparent on the inoculated plants, 5 out of the 10 plants that had been infected with one of the viruses was super-inoculated with the other virus and vice-versa. Also, half the plants of the same age that had been kept as non-inoculated controls were at this time inoculated separately with each of the viruses.

Virus recovery was attempted by means of the vector and by mechanical inoculation 3 and 8 weeks after the second inoculation. The results were all negative for the challenging viruses, but they were also negative for those control plants that had been inoculated with the second virus only.

Tests with jimson weed

Jimson weed plants are more suitable for cross protection tests with the two viruses because the EMV induces local lesions on this species and

can thus be tried as the challenging virus on plants that have been systemically invaded by the AMV. The only difficulty involved in this combination was that the AMV is rather slow to induce symptoms on jimson weed so that inoculation of the second virus had to be somewhat retarded.

From one of the series in which jimson weed plants had been infected with the AMV, 5 plants that were displaying systemic mottling symptoms were selected and inoculated by rubbing with a suspension of the EMV. Control plants were similarly inoculated. Local lesions appeared on the plants already carrying the AMV, although they were less numerous than those that appeared on the control plants. Recovery of the second virus from the superinoculated plants indicated that the concentration of the second virus in the plants that carried the first approached that of the controls.

Other possible combinations for carrying out cross protection tests with the EMV and AMV

There are a few other possibilites of studying the cross protection between the EM and AM viruses. Thus, cotton plants that develop mosaic when invaded by the AMV can be further submitted to the feeding of viruliferous white flies carrying EMV. These usually induce necrotic lesions at the feeding punctures on both, *Gossypium hirsutum* and *Gossypium barbadense* plants. Some other *Malvaceae* species can also be used similarly, as well as *Nicandra physaloides*.

IX. COMPARISON OF EM AND AM WITH OTHER LOCAL VIRUS DISEASES

The writers have been searching for other virus diseases that occur locally and might belong to the white-fly-transmitted group. A short account on two of them is given below.

Leonurus yellow mosaic

Weed plants of the species *Leonurus sibiricus* L. occurring in various parts of the state of São Paulo are frequently infected with a type of yellow mosaic. The symptoms resemble closely those displayed by some species when infected with the EM or AM viruses.

Transmission of *Leonurus* yellow mosaic was effected by *Bemisia tabaci* to healthy seedlings of this species. Two out of 10 plants were infected after being colonized with 20 white flies fed previously on a diseased *Leonurus* plant for 24 hours. Seven plants out of 10 were infected when infested with the same number of white flies that had fed on the virus source for 3 days. The *Leonurus* virus was fairly easily transmitted mechanically to seedlings of the same species and apparently infects *Nicotiana glutinosa* and tobacco.

Undoubtedly the *Leonurus* yellow mosaic virus is related to the EM or AM virus group, but all attempts made to-date to infect *Leonurus sibiricus* plants with the EM or AM viruses by exposing the test plants to viru-

liferous populations in the insectaries have failed. These results, however, are not considered conclusive.

Cassava mosaic

A type of cassava mosaic is present in the state of São Paulo. It does not seem to be so infectious in nature as cassava mosaic in Africa (24), a white-fly-transmitted virus. It seems to differ from the last disease for being easily transmitted by mechanical inoculation.

The damage induced by cassava mosaic in São Paulo is at present negligible. Since the vector of cassava mosaic in Africa is *Bemisia tabaci*, attempts were made to transmit cassava mosaic in São Paulo by the same species of vector. All tests made so far have failed. Also, cassava plants that were submitted to a viruliferous white fly population carrying the EMV remained healthy.

X. DISCUSSION

Experiments with *Bemisia tabaci* from colonies bred on *Sida* spp. or on *Euphorbia prunifolia* showed that insects from each of the two sources could transmit AMV from *Sida* to other host plants of the virus; and EMV from *Euphorbia prunifolia* to seedlings of the same species or to *Datura stramonium*. Insects from the same colonies were not able to transmit AMV from *Sida* to *Euphorbia prunifolia* nor to induce systemic invasion of *Sida* spp. with the EMV. Difficulties in feeding, as reported from Porto Rico (3) for the same white fly species and other test plants, cannot explain these results since it was noticed that insects from both sources fed well on all plants in the tests. The tests also showed that white flies carrying the EMV fed well on several *Malvaceae* and were able to induce local lesions at the feeding punctures, thus showing that virus had been introduced in the plants. Moreover, it was shown that individual white flies from comparable colonies could pick up and carry the two viruses simultaneously, as it was verified for two other white fly-transmitted viruses (26). It follows, therefore, that the differences noticed in the cross inoculation tests with the vector were inherent to the viruses themselves.

The results from cross transmission tests by mechanical inoculation also indicated that there were differences between the EM and AM viruses that could not be explained on the basis of differences in test plants or presence of inhibitors in the inoculum, although these were a factor in some of the combinations tried. Thus, the EMV was easily transmitted from jimson weed to jimson weed, but not to the *Sida* and *Malva* species tried. *Euphorbia prunifolia* was also difficult to infect mechanically with the EMV from jimson weed, but could be infected when the virus source was *Euphorbia prunifolia*. This last result could be attributed to the presence of an inhibitor in the jimson weed juice that prevented infection of *Euphorbia prunifolia* with the EMV.

On the other hand, the AMV was transmitted mechanically to *Malva parviflora*, *Malva* sp., and *Nicotiana glutinosa* in a great number of cases,

and to *Datura stramonium, Nicandra physaloides* and *Sida micrantha* in a few cases. It was not transmitted to *Euphorbia prunifolia.*

The AM and EM viruses present certain definite differences in host range as can be seen from table 5. Furthermore, even on those host plants that can be infected by both, the differences in symptomatology are usually great and there are also differences in the susceptibility of the common host plants. In comparative tests, the soybean, tomato, and jimson weed were the host plants on which the two viruses caused symptoms that presented the most resemblance, although those induced by the EMV were more severe.

The physical properties of the two viruses were remarkably similar, though the determinations were carried out by the use of a local lesion test plant in one case and by the count of infected plants in the other.

Attempts made to carry out cross protection tests gave inconclusive results. In the experiments with soybean and tomato, establishment and recovery of the challenging virus was difficult even in the case of the healthy control plants that were inoculated at the same time as the plants that already had the first virus. So the negative results did not mean that tissue invasion by the first virus offered protection against invasion by the second. On the other hand, the results obtained in the cross protection tests with jimson weed seem to indicate that the presence of the AMV in this plant offered little or no protection against infection with the EMV. It would be highly desirable to study the relationship between these two viruses by serological methods, but this has not been possible yet.

The results discussed previously lead to conflicting views as to the relationship between the *Abutilon* and *Euphorbia* mosaic viruses. The properties of the two viruses in vitro are similar and they are transmitted by the same insect vector. However, differences in host range, in symptom expression on common host plants, and the greater facility with which the EMV is transmitted by the vector and by mechanical inoculation, indicate that the AMV and EMV are not identical, although they are probably related. In the writers' opinion, the differences between these two viruses are greater than those between the common and yellow bean mosaic or between certain types of ring spot viruses.

Accepting that the AM and EM viruses are related, differences in host range, symptom expression, and transmissibility could be explained by postulating that the latter virus is a closely related species or a strain of the complex somewhat distant from AMV, and that necrosis as caused by EMV is a stepped up type of infection when compared with mosaic. Under this assumption, most plants that develop mosaic when infected with AMV would react to EMV as follows: (a) show more severe mosaic symptoms; (b) develop local necrosis at the point of entry and become localized; (c) become invaded systemically and show systemic necrosis; (d) present a high resistance to EMV of the hypersensitive type.

The scheme outlined above would explain the greater severity of the diseases induced on tomato, jimson weed, and soybean plants by the EMV when compared with those resulting from AMV infection. In case of cotton,

Sida micrantha, and *Sida rhombifolia* that show mosaic when infected with AMV, the EMV induces local lesions, being prevented from further invasion. Invasion could occur occasionally as in case of bean plants, tobacco, and *Nicandra physaloides*, but the virus would cause mostly systemic necrotic symptoms or tend to become localized in the necrotic spotting.

The preliminary information obtained by the writers on the *Leonurus* yellow mosaic virus seems to indicate that it is not identical to either AMV or EMV, although it might be related to both.

In Porto Rico, BIRD studied a withe fly-transmitted disease of *Jatropha gossypifolia* L. (3) and a disease of *Sida carpinifolia* L. (4) also transmitted by white flies. It is not quite clear from BIRD's papers whether or not he considers the virus form *Jatropha* different from that infecting *Sida carpinifolia*. It is possible that there, as in São Paulo, two or more related groups of white fly-transmitted viruses are present.

The fact that *Abutilon* mosaic virus from *Sida carpinifolia*, and the *Jatropha* virus, infected tobacco plants in Porto Rico has led to the denomination of the tobacco disease as leaf curl, thus implying a relationship to tobacco leaf curl as described from other countries (16, 19, 23, 25). Infection of tobacco with the AMV from *Sida* and with EMV from *Euphorbia* has been obtained. The symptoms of the disease induced by AMV resemble exactly what was described from Porto Rico, except that no leaf enations were noticed. In Porto Rico, leaf enations were present when the virus was obtained from *Jatropha* (3), but not when coming from *Sida carpinifolia* (4). In São Paulo tobacco plants were more difficult to infect with EMV than with AMV. The diseases caused by the two viruses on tobacco were slightly different. Even in the case of AMV, infection of tobacco plants could be obtained fairly well only when large numbers of viruliferous vectors per plant were used. This fact explains why AMV is so seldom found on tobacco under field conditions. EMV on field tobacco has not been recorded yet, although it is of possible occurrence since virus sources and vectors are abundant.

Definite differences in the susceptibility of tobacco varieties to the disease induced by AMV were noticed, this apparently not being the case in Porto Rico (4). The disease seems to be rather common under field conditions there, and this was attributed to the appearance of a new race of the vector, better adapted to the tobacco host plant.

Several forms of leaf curl were observed in tobacco plantings in Porto Rico (4). The writers wonder whether or not in Porto Rico as in São Paulo, tobacco plants are affected in the field by a virus that belongs to the beet curly top virus complex (2) and induces symptoms on tobacco plants that may be confused with those of tobacco leaf curl. Since a virus of the beet curly top group seems to be present in tomato plantings in Porto Rico (1), it might also occur in tobacco plantings, although attempts made to transmit it from tomato to tobacco failed (1). In case of the tobacco disease caused by the curly top virus, as well as in the disease induced by the virus from *Sida*, it has been the writers' experience that it is often difficult to recover

the inciting virus from infected tobacco back to greenhouse test plants either by means of their respective vectors or by grafting.

WOLF, WHITCOMB, and MOONEY (27) reported the occurrence of tobacco leaf curl in Venezuela. It is possible that the disease described by these investigators is more closely related to one of the white fly-transmitted mosaic diseases present in other parts of the Americas than to tobacco leaf curl as present in other continents. A comparison of the symptoms induced by the AMV on tobacco in the Americas (3, 4, 7, 12) with those of tobacco leaf curl in other parts of the world (16, 19, 23, 25) shows some differences. The disease in India and Africa seems to be more severe than that in Brazil, Venezuela, or Porto Rico. The presence of leaf enations is considered typical of this disease (16), but seems less frequent in Porto Rico and has not been recorded in São Paulo. Also, leaf curl symptoms on tobacco as induced by AMV in São Paulo result from the presence of a mosaic pattern that has not been described in connection with tobacco leaf curl from other countries. The comparison of the symptoms induced by AMV with those described for tobacco leaf curl on host plants susceptible to both indicate that there are considerable differences.

Cotton leaf curl from *Gossypium barbadense* varieties in Africa was described as inducing yellow mosaic on some varieties of Upland cotton (14). Later observations (13) seemed to indicate that the mosaic and leaf curl symptoms in cotton were associated with different viruses. Since the *Abutilon* mosaic virus induces a yellow mosaic disease on all types of Upland cotton that have been tested in São Paulo, the writers also tried several times to infect *Gossypium barbadense* with the AMV from *Sida* to verify whether this species would develop leaf curl symptoms. Varieties of this group were highly resistant to infection with AMV when compared with Upland cotton, but when occasionally infected the symptoms displayed were of the yellow mosaic type. It seems possible that a virus related to the AMV complex is present in Sudan and in West Africa, and that the cotton mosaic symptoms observed there were due to this virus, whereas cotton leaf curl is due to another virus. In this case it would be highly probable that the two viruses would occur together in the same plant in a number of cases.

A disease of cotton, leaf crumple, was described from California (11) and shown to be transmitted by *Bemisia tabaci* (15). It is considered different from cotton leaf curl, although it resembles it more than any other white fly-transmitted virus. Leaf crumple seems to be quite distinct from the yellow mosaic of cotton caused by the *Abutilon* mosaic virus, although it was mentioned that vein clearing and interveinal chlorosis might sometimes be associated with the disease (11).

Several other white fly-transmitted diseases have been reported (5, 6). They seem to be more closely related to the mosaic group than to the leaf curl group of diseases transmitted by *Bemisia tabaci.*

The white fly-transmitted viruses present in São Paulo induce mostly mosaic diseases and are all transmitted mechanically. None of the other

viruses causing leaf curl of cotton or tobacco has been transmitted mechanically and they have been associated mostly with curl diseases. It appears more reasonable to consider the white fly-transmitted disease groups in São Paulo and possibly groups occurring in other parts of the world as incited by closely or far related virus complexes that might have had a common origin and became specialized in one way or another. Some of these specialized forms probably deserve now to rank as species.

From the tests on mechanical inoculation of the AMV the writers have obtained indications that this virus or complex seems to be amenable to selection and that forms better adapted to being transmitted mechanically or to infect certain species are obtainable.

Summary

White flies (*Bemisia tabaci*) bred on *Euphorbia prunifolia* or on *Sida* species were able to pick up and transmit the EM and AM viruses. The EMV was more efficiently transmitted by the vector than AMV. Individual insects were able to carry the two viruses simultaneously.

Differences in host range and in the symptoms developed on common host species were noticed when series of comparable test plants were exposed separately to viruliferous white fly populations carrying respectively the EM and AM viruses. Tobacco plants were more resistant to EM than to AM. When infected by these viruses they showed symptoms that resembled those of tobacco leaf curl, but seemed to result from the presence of a mosaic pattern. Leaf enations were not noticed. Upland cotton (*Gossypium hirsutum*) developed yellow mosaic when infected with AMV. Varieties of *Gossypium barbadense* were comparatively resistant to AMV. When infected they showed the same yellow mosaic pattern presented by *hirsutum* plants. The var. "Tanguis" was the most susceptible of the varieties belonging to the *barbadense* group that were tried. Both, *Gossypium hirsutum* and *Gossypium barbadense* plants developed necrotic markings at the places where white flies carrying the EMV fed. Systemic invasion was not recorded.

Comparative tests on the mechanical inoculation of the EM and AM viruses showed that the former is more easily transmitted than the latter. *Datura stramonium* is a local lesion test plant for the EMV. *Malva parviflora* and *Nicotiana glutinosa* were good test plants for the AMV. The physical properties of the two viruses in vitro were remarkably similar. Cross protection tests between the EM and AM viruses gave inconclusive results. The evidence available indicates that the EM and AM viruses are not identical, although they may be related.

A type of yellow mosaic on *Leonurus sibiricus* was shown to be transmitted by *Bemisia tabaci*. This virus was also transmitted mechanically and

apparently is not identical to either EM or AM viruses, though it is probably related to them.

The white fly-transmitted viruses in the Americas induce mostly diseases of the mosaic type, although the symptoms on certain host plants resemble those induced by the tobacco leaf curl virus. Until serological tests or comparative studies of these diseases caused by the white fly-transmitted leaf curl and yellow mosaic complexes present evidence to the contrary, it seems more desirable to consider these virus groups as distinct.

Zusammenfassung

Populationen der Mottenschildlaus (*Bemisia tabaci*), die auf *Euphorbia prunifolia* oder auf *Sida*-Arten herangezogen wurden, vermochten entweder das EM- oder das AM-Virus aus kranken Pflanzen aufzunehmen und sie auf geeignete Testpflanzen zu übertragen. Einzelinsekten waren auch fähig, beide Viren gleichzeitig zu tragen.

Zwei getrennte Mottenschildlauspopulationen, welche das EM-Virus bzw. das AM-Virus trugen, wurden auf verschiedene Testpflanzen gebracht, wodurch sich Unterschiede der beiden Viren in bezug auf den Wirtspflanzenkreis und in bezug auf die hervorgerufenen Symptome feststellen ließen.

Tabakpflanzen waren gegen EM-Virus widerstandsfähiger als gegen AM-Virus. Beide Viren zeigten aber Symptome, die ähnlich denen der Kräuselkrankheit waren; Blattenationen wurden nicht beobachtet.

Auf Baumwolle rief AM-Virus ein gelbes Mosaik hervor. Sorten der *Gossypium barbadense*-Gruppe waren widerstandsfähiger gegen AM-Virus als *Gossypium hirsutum*. Von den in den Versuch einbezogenen Sorten der *Gossypium barbadense* war „Tanguis" am empfindlichsten. Das EM-Virus vermochte auf den Blättern beider Baumwollarten nur nekrotische Lokalläsionen an den Saugstellen hervorzurufen; eine allgemeine Erkrankung erfolgte hingegen nicht.

Die Ergebnisse der Versuche über Prämunität zwischen EM- und AM-Virus sind nicht endgültig.

Es wurde auch festgestellt, daß ein gelbes Mosaik von *Leonurus sibiricus* ebenfalls durch *Bemisia tabaci* übertragen wird. Diese Krankheit läßt sich auch mechanisch übertragen. Der Erreger ist aber weder mit dem AM-Virus noch mit dem EM-Virus identisch, möglicherweise aber mit ihnen verwandt.

Die in Amerika durch Mottenschildläuse übertragenen Viren rufen auf ihren Wirtspflanzen meist Mosaiksymptome, zuweilen aber auch Symptome, die denen der Tabakkräuselkrankheit ähnlich sind, hervor. Es scheint daher besser, die durch Mottenschildläuse übertragenen Tabak- und Baumwollvirosen in Amerika und in den übrigen Teilen der Welt als getrennte Gruppen zu betrachten.

Literature cited

1. Adsuar, Jose., 1955: A disease of tomato in Puerto Rico resembling Brazilian curly top of tomatoes. J. Agric. Univ. Puerto Rico **39**, 113—114.
2. Bennett, C. W., and A. S. Costa, 1949: A curly top disease of tomato and tobacco in Brazil closely resembling curly top of sugar beet in the States and Argentina. J. agric. Res. **78**, 675—695.
3. Bird, Julio, 1957: A white fly-transmitted mosaic of *Jatropha gossypifolia*. Univ. of Puerto Rico Agr. Exp. Sta. Tech. Paper **22**, 1—35.
4. — —, 1958: Infectious chlorosis of *Sida carpinifolia* in Puerto Rico. Univ. of Puerto Rico Agr. Exp. Sta. Tech. Paper **26**, 1—23.
5. Capoor, S. P., and P. M. Varma, 1948: Yellow vein-mosaic of *Hibiscus esculentus* L. Indian J. Sci. **20**, 217—230.
6. — —, and — —, 1950: A new virus disease of Dolichos lablab. Curr. Sci. **19**, 248—249.
7. Costa, A. S., 1955: Studies on Abutilon mosaic in Brazil. Phytopath. Z. **24**, 97—112.
8. — —, and C. W. Bennett, 1950: White-fly-transmitted mosaic of *Euphorbia prunifolia*. Phytopathology **40**, 266—283.
9. — —, and Ana Maria B. Carvalho, 1960: Mechanical transmission and properties of the Abutilon mosaic virus. Phytopath. Z. **37**, 259—272.
10. — —, and — —, (unpublished): Transmissão mecânica e propriedades do vírus causador do mosaico em *Euphorbia prunifolia*.
11. Dickson, R. C., M. McD. Johnson and Edward F. Laird, Jr., 1954: Leaf crumple, a virus disease of cotton. Phytopathology **44**, 479—480.
12. Flores, E., and K. Silberschmidt, 1958: Relations between insect and host plant in transmission experiments with infectious chlorosis of *Malvaceae*. An. Acad. Brasil. Cien. **30**, 535—560.
13. Hutchinson, J. B., and R. L. Knight, 1950: Response of cotton to leaf-curl disease. J. Gen. **50**, 100—111.
14. Kirkpatrick, T. W., 1931: Further studies on leaf curl of cotton in the Sudan. Bull. Ent. Res. **22**, 323—363.
15. Laird, Jr., E. F., and R. C. Dickson, 1959: Insect transmission of the leaf-crumple virus of cotton. Phytopatholgy **49**, 324—327.
16. McClean, A. P. D., 1940: Some leaf-curl diseases in South Africa. Sci. Bull. Dep. Agric. S. Africa **225**, 70 pp.
17. Morgan, Omar D., 1952: Transmission of tobacco leaf curl to other hosts. Phytopathology **42**, 343 (Abst.).
18. Orlando, A., and K. Silberschmidt, 1946: Estudos sôbre a disseminação natural do vírus da clorose infecciosa das malvaceas (*Abutilon virus* 1 Baur) e a sua relação com o inseto-vetor *Bemisia tabaci* (Genn.). Arch. Inst. biol. (Def. agric. anim.) São Paulo **17**, 1—36.
19. Pal, B. P., and R. K. Tandon, 1937: Types of tobacco leaf curl in Northern India. Indian J. Agric. Sci. **7**, 363—393.
20. Pruthi, H. S., and C. K. Samuel, 1939: Entomological investigations on the leaf-curl disease of tobacco in North India. III. The transmission of leaf-curl by white-fly, *Bemisia gossypiperda*, to tobacco, Sann hemp and a new alternate host of the leaf-curl virus. Indian J. Agric. Sci. **9**, 223—275.

21. Silberschmidt, K., E. Flores & L. R. Tommasi, 1957: Further studies on the experimental transmission of infectious chlorosis of *Malvaceae*. Phytopath. Z. **30**, 387—414.

22. — —, & L. R. Tommasi, 1955: Observações e estudos sôbre espécies de plantas suscetíveis à clorose infecciosa das Malvaceas. An. Acad. Brasil. Ci. **25**, 195—214.

23. Storey, H. H., 1932: Leaf-curl of tobacco in Southern Rhodesia. Rhod. Agric. J. **29**, 186—192.

24. — —, and R. F. W. Nichols, 1938: Studies on the mosaic diseases of cassava. Ann. appl. Biol. **25**, 790—806.

25. Thung, T. H., 1932: De Krul en kroepoek-ziekten van Tabak en de oorzaken van hare verbreiding. Meded. Proefst. Vorstenlandsche Tabak **72**, 54 pp.

26. Varma, P. M., 1955: Ability of the white-fly to carry more than one virus simultaneously. Curr. Sci. **24**, 317—318.

27. Wolf, F. A., W. H. Whitcomp and W. C. Mooney, 1949: Leaf curl of tobacco in Venezuela. Jour. Elisha Mitchell Sci. Soc. **65**, 38—47.

Royal Agricultural College, Uppsala 7, Sweden

Physiological Races of *Erysiphe graminis* DC f. sp. *hordei* Marchal in Sweden

By

A. Wiberg

Introduction

The physiological race specialization of powdery mildew on barley, *Erysiphe graminis* f. sp. *hordei,* has been a subject of very intensive investigations in many countries during the last three decades. As early as 1930 Mains and Dietz in USA first demonstrated the existence of physiological races within this formae speciales and they were able to isolate as many as five. Later other investigators continued these studies and at the present time no fewer than 20 different races have been found in North America (Powers and Moseman 1957). To identify these races 6 differential varieties are used, as described by Cherewick (1944).

In Argentina 2 different races have been found (Favret 1947), both of which are different from those in North America. In Japan, Hiura and Heta (1955) have isolated 11 races, of which some are showing similarities to the American races in their pathogenicity but they are not identical. In Germany, Honecker (1934, 1937) made the first studies of the race specialization of barley mildew and found 9 different races. Later studies in Germany have revealed more races and by 1958 there were 18 different races isolated (Hoffmann and Nover 1959). To distinguish these races, however, differential varieties different from those in America are used. Comparisons between the German and American races therefore are not possible.

In order to determine the race situation in Sweden an investigation of the same kind as in the countries mentioned above was started in 1958. Since Germany and Sweden are closely situated it was to be expected that the race spectrum would be about the same in the two countries. Therefore, the same differentials were chosen for this investigation as those already used in Germany. The American differentials were also used in many tests but they do not seem to be suited to the analysis of races in Sweden.

Materials and methods

The method for collecting the mildew samples, their isolation, and preservation is similar to that used by other investigators (Moseman 1956, Strand, pers. commun.).

Samples of mildew were collected from the southern and south-eastern part of Sweden. Plants of barley, isolated by growing them in glass tubes (35 × 350 mm), were inoculated directly in the field with conidia from diseased material.

Each sample was maintained in such tubes until tested, and the cultures were transplanted to new plants in new tubes about every fifth week.

Before testing, the mildew was increased on 25—30 plants, growing in "multiplication pots" and isolated with a glass cylinder (80 × 250 mm) covered by a spore-tight cloth. The differentials were grown in smaller pots, placed in special boxes (36 × 38 × 30 cm) made of sheet metal, enclosed by plastic on three sides and spore-tight cloth on the remaining two sides.

All tests have been made in the greenhouse where the temperature has been about 18—20 °C. However, it has been impossible to avoid rather large variations around these values.

To facilitate the determination of the races, tests of only single pustule cultures from the collected mildew samples have been made.

The seedlings of the differential varieties were inoculated in the first-leaf stage by shaking conidia from the "multiplication pots" on them. The readings were made about 10 days after inoculation.

The infection types on the differentials were classified according to the usual system from 0 (immune or highly resistant) to 4 (very susceptible), as described by NOVER (1957). The differential varieties were the same as those used in Germany (HOFFMANN and NOVER 1959) except that Gatersleben Mutante 501 and Hor. 1063 were not included. With these varieties it has been possible to distinguish 18 different races in Germany and these races are divided into four groups namely A, B, C and D. Table 1 shows the nomenclature of the races and the infection types on the differentials. The same nomenclature, of course, has been used for the races found in Sweden.

Parallel with the differentials mentioned above the 6 test-varieties used in North America were employed in order to observe similarities to the American races. In many cases, however, it was very difficult to make any correct classification of the infection types and, furthermore, the varieties were not as good as the German ones for separating the races. Perhaps further studies will make it possible to have such a comparison at least for some races.

Results

Decisive race determinations were made of 67 single pustule cultures, and usually one replication of the test was made to confirm the first result. In a few other cultures, not reported in this paper, it was more difficult to identify the race. All of these doubtful cases, however, belonged to race-group A.

Among those 67 cultures no fewer than 12 different races were found. The races and their frequencies are given in table 2.

Of the races found, 10 (A_1, A_2, A_3, A_4, D_1, D_3, B_7, C_2, C_3, C_4) have been reported earlier in Germany but two of them are new. These two races

Table 1

Physiological races of the powdery mildew fungus isolated in Germany up to 1958

(Hoffmann und Nover 1959)

Differential variety	Race group A					D		B						C				
	Race																	
	A_1	A_2	A_3	A_4	A_5	D_1	D_3	B_2	B_3	B_4	B_5	B_6	B_7	C_2	C_3	C_4	C_5	C_6
Haisa	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Weihenstephan CP 127 422	0	0	0	0	0	0	0	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Ragusa b	0	0	0	0	0	4	4	0	0	0	0	0	0	4	4	4	4	4
Weihenstephan Stamm 37/136	0	4	0	4	0	4	4	4	0	0	4	4	4	4	4	4	4	4
Weihenstephan Stamm 41/145	0	0	4	0	0	4	4	4	4	0	0	0	0	4	4	4	4	4
Rinn 4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	4	4	4	4	4	4
Hordeum spontaneum nigrum Gatersleben	0	0	0	0	3–4	0	0	0	0	0	0	4	0	0	0	3	4	0
Mutante 511 Gatersleben	4	0–1	4	4	0–1	0–1	4	0–1	0–1	–	4	4	0–1	0–1	4	0–1	4	4
Mutante 501	0	0	0	0	–	0	0	0–1	0	–	4	4	–	0–1	0–1	4	4	0
Hor. 1063	–	0–1	–	–	–	–	0–1	–	–	–	–	0–1	–	0	4	0–1	0–1	0–1

— = not tested.

belong to race group A and they are called A_6 and A_7. Table 3 shows the infection types on the differentials for these two races.

Table 2

Physiological races of powdery mildew isolated from conidia on barley plants in Sweden, 1958

Race group	A						D		B	C			
Race	A_1	A_2	A_3	A_4	A_6	A_7	D_1	D_3	B_7	C_2	C_3	C_4	
Frequencies	4	7	2	3	6	3	14	8	1	9	9	1	
Total	25						22		1	19			67

Table 3

Infection types produced on the differential varieties of the races A_6 and A_7

Differential variety	Race A_6	Race A_7
Haisa	4	4
Weihenstephan CP 127 422	0	0
Ragusa b	0	0
Weihenstephan Stamm 37/136	0	0
Weihenstephan Stamm 41/145	0	4
Rinn 4	0	0
Hordeum spontaneum nigrum	0	0
Gatersleben Mutante 511	0–1	0–1

As mentioned before, single pustule cultures from the collected material were tested. For race A_7 the infection type on the differentials was also checked by testing with single spore cultures. Race A_6 will also be tested by this technique.

In their pathogenicity A_6 and A_7 seem to be very similar to A_1 and A_3, respectively. However A_6 and A_7 can be separated from A_1 and A_3 by using Mutante 511, which is highly resistant to the former races but susceptible to the latter two.

Concerning the mutual distribution of the races, the A-, D- and C-groups have about the same frequency (tab. 2) while only one isolated case has been recorded for the B-group. Within the former groups, races A_2, A_6, D_1, C_2 and C_3 were the most common. Race C_4 which is found in only one case, was isolated from plants growing in Blekinge while B_7 which was also found once was isolated from material collected in Södermanland. The frequencies for the different race groups in different counties are given in table 4.

From this table it seems very probable that the race spectrum will be similar in the whole area investigated. This is verified to a certain extent by some test results, which indicate that many races can be found in one and the same field. The method of over-wintering is probably the reason for this

Table 4

Frequencies for the different race groups in different counties in Sweden 1958

County	Race group				
	A	D	B	C	Total
Malmöhus	2	9		6	17
Kristianstad	7	5		2	14
Blekinge	2			2	4
Halland		1		1	2
Kronoberg				1	1
Kalmar	5	4		1	10
Östergötland	1	1		1	3
Gotland	1			1	2
Skaraborg				1	1
Örebro	1	1			2
Södermanland	1	1	1		3
Stockholm	2			1	3
Uppsala	2			2	4
Västmanland	1				1
Total	25	22	1	19	67

great race variation within a very small area. Winter barley is grown to a very limited extent in Sweden, and thus the mildew fungus is forced to survive from one year to another in the perithecial stage. Every spring the new mildew attacks will be derived from ascospores and by this method there will be a yearly recombination of the genes in the fungus, possibly giving rise to many races.

Studies of Cherewick (1944) and Powers and Moseman (1957) have shown the existence of such a variability in pathogenicity of mildew cultures derived from ascospores. Thus, Cherewick obtained 4 different races from ascospores whilst only 2 races were found in cultures derived from conidia collected in the same field. Powers and Moseman isolated 14 different "pathogenic types" among 53 cultures derived from single ascospores. In many cases they found as many as 3 different "pathogenic types" from a single perithecium.

In the present investigation tests of cultures derived from ascospores have given similar results. In a trial of 10 perithecia, isolated from each other and collected in the same field, there developed ascospores and new cultures in two cases.

From one perithecium three cultures were isolated and eight from the other. The tests carried out with these cultures gave the following results:

Perithecium 1:	Race	D_1	B_4	C_2	
	Frequency	1	1	1	
Perithecium 2:	Race	A_2	A_6	A_7	D_1
	Frequency	3	3	1	1

As shown above 3 races were obtained from one perithecium and 4 races from the other but as one of the races is common to both there will be a total of 6 different races.

One of the races above has not been found among the cultures isolated from conidia. This race is indicated as B_4 although the complete picture of its pathogenicity on the differentials has not been reported before (see table 1). In the results shown in that table, the infection type is missing for one of the differentials, Gatersleben Mutante 511, used in this study. This variety, however, was very susceptible (type 4) to the race. The varieties Rinn 4 and Weihenstephan Stamm 37/136 gave reaction type 0—1 and 1, respectively for the B_4-race isolated in this study, instead of type 0 given in table 1. For the latter variety, however, ULONSKA (1953) reported type 0—1 for the same race isolated in the Bayerische Landessaatzuchtanstalt, Weihenstephan.

Discussion

The present investigation has shown that the physiological race specialization of powdery mildew on barley is very great in Sweden. The material, however, is still too small to make a more detailed analysis of the race spectrum but a few interesting points may be mentioned.

Of the races obtained C_4 is the only one which is able to break down the resistance in *Hordeum spontaneum nigrum*. This race was found only in one collection but that is sufficient to make it dangerous for the plant breeder to ignore it in breeding for disease resistance.

The two new races belong to the race group A and are rather weak in their pathogenicity. It is, therefore, not so difficult for the breeder to find sources of resistance to them.

Comparing the race spectrum in Sweden and in Germany both similarities and differences can be seen. The races in both countries are about the same, but the frequencies are different. In Sweden the A-, D- and C-groups were found in about the same frequency while group B was found only once. In Germany, however, race group C is dominating while group B occupies second place. A and D are less common or even very rare (NOVER 1957, HOFFMANN and NOVER 1959).

It is impossible to compare the race spectra in Sweden and other countries because different sets of differential varieties are used. However, it would be very interesting to be able to make such a comparison and it may be hoped that there will be possibilities for that in the future. For making a set of differentials which could be used over the whole world it is necessary to know more about the variation in pathogenicity and its genetical background in the fungus. The testing of cultures from ascospores has shown that it is possible to obtain a wide segregation of races through the sexual phase of the fungus.

In support of this theory of race segregation it may be pointed out that in Argentina only one race (Arg. 1) existed until 1946 whereafter this race was replaced by Arg. 2 (FAVRET 1947). It is significant that the fungus does

not produce ascospores under the prevailing conditions in Argentina and it is assumed that the new race has arisen by a mutation of the old one (FAVRET, pers. comm.). Where perithecia are formed and ascospores liberated, large numbers of races occur as may be seen from the results described above from different countries.

Summary

Through tests of 67 single pustule cultures of barley powdery mildew isolated from conidia on material collected in southern and south-eastern Sweden during 1958 no fewer than 12 different physiological races were obtained. For the determinations, the same differential varieties as those in Germany were used. The nomenclature and the grouping of the races have also been the same.

Of the races found, 10 (A_1, A_2, A_3, A_4, D_1, D_3, B_7, C_2, C_3, C_4) were earlier reported in Germany whilst two may be new. Both of them belong to the race group A and they are indicated A_6 and A_7. The infection types on the differentials for these two races are given.

Another race, B_4, was isolated from ascospores. From the same perithecium the races D_1 and C_2 were also obtained while another perithecium gave the races A_2, A_6, A_7 and D_1.

Zusammenfassung

Im Jahre 1958 wurde eine Untersuchung über die physiologische Rassenspezialisierung des Gerstenmehltaues (*Erysiphe graminis* f. sp. *hordei*) in Schweden begonnen. 67 Einzelpustelkulturen von Konidien aus Mehltauproben, die im südlichen und südöstlichen Schweden eingesammelt waren, wurden analysiert.

Zur Bestimmung der Rassen wurde das in Deutschland aufgestellte Testsortiment (HOFFMANN und NOVER 1959) mit Ausnahme der beiden Sorten Gatersleben Mutante 501 und Hor. 1063 verwendet. Die Nomenklatur der deutschen Mehltaurassen mit Buchstaben ist auch für die schwedischen Rassen benutzt worden.

In den analysierten Proben wurden 12 Rassen gefunden. Von diesen Rassen sind 10 (A_1, A_2, A_3, A_4, D_1, D_3, B_7, C_2, C_3, C_4) schon in Deutschland isoliert und beschrieben worden, während 2 bisher nicht erwähnt sind. Diese beiden Rassen gehören zu der Rassengruppe A und sind als A_6 und A_7 bezeichnet worden. Tabelle 3 gibt die Bonitur für diese neuen Rassen an.

Die drei Rassengruppen A, D und C haben ungefähr dieselbe Häufigkeit, während Rassengruppe B nur in einem einzigen Fall vertreten ist. In der Tabelle 2 sind die Frequenzen jeder Rasse und Rassengruppe angegeben.

In Schweden sind also hauptsächlich dieselben Rassen wie in Deutschland vertreten, aber die Frequenzen sind verschieden. In Deutschland dominiert nämlich die agressive Rassengruppe C, während die Rassengruppen A und D sehr selten sind (NOVER 1957, HOFFMANN und NOVER 1959).

Nach Untersuchungen von POWERS und MOSEMAN (1957) kann der Mehltaupilz mehrere Rassen durch Ascosporen aus einem und demselben Peri-

thezium entwickeln. In der vorliegenden Untersuchung war es ebenfalls gelungen, 4 verschiedene Rassen (A_2, A_6, A_7, D_1) aus einem und 3 Rassen (D_1, B_4, C_2) aus einem anderen Perithezium zu erhalten. Von diesen Rassen wurde B_4 nicht in Konidienkulturen gefunden.

Acknowledgements

The investigation has been supported by a grant from the Agricultural Research Council and carried out under the direction of the Institute of Plant Systematics and Genetics and the Institute of Plant Pathology at the Royal Agricultural College, Uppsala 7. All the tests and other work have been done at the Swedish Seed Association, Svalöf, where also greenhouse space and some technical equipment has been obtained. For these things and for many profitable discussions with teachers and colleagues the author wishes to express his appreciation.

Thanks are also given to Dr. Ilse Nover, Halle, Germany, and Dr. J. G. Moseman, Beltsville, USA, who have supplied seed for the differential varieties and to Dr. Erling Strand, Vollebekk, Norway, for help with the planning of the investigation.

Literature cited

1. Cherewick, W. J., 1944: Studies of the biology of *Erysiphe graminis* DC. Canad. J. Res., Sect. C, **22**, 52—86.
2. Favret, E. A., 1947: Hallazgo de una nueva raza de „*Erysiphe graminis hordei*". Rev. Invest. Agr. **1**, 237—240.
3. Hiura, U., and H. Heta, 1955: Studies on the disease-resistance in barley III. Further studies on the physiologic races of *Erysiphe graminis hordei* in Japan. Ber. Ohara Inst. Landw. Biol. **10**, 135—156.
4. Hoffmann, W., und Ilse Nover, 1959: Ausgangsmaterial für die Züchtung mehltauresistenter Gersten. Z. Pflanzenz. **42**, 68—78.
5. Honecker, L., 1934: Über die Modifizierbarkeit des Befalles und das Auftreten verschiedener physiologischer Formen beim Mehltau der Gerste *Erysiphe graminis hordei* Marchal. Z. Pflanzenz. **19**, 577—602.
6. — —, 1937: Die Bestimmung der physiologischen Rassen des Gerstenmehltaues (*Erysiphe graminis hordei* Marchal). Phytopath. Z. **10**, 197—222.
7. Mains, E. B., and S. M. Dietz, 1930: Physiologic forms of barley mildew, *Erysiphe graminis hordei* Marchal. Phytopathology **20**, 229—239.
8. Moseman, J. G., 1956: Physiological races of *Erysiphe graminis* f. sp. *hordei* in North America. Phytopathology **46**, 318—322.
9. Nover, I., 1957: Sechsjährige Beobachtungen über die physiologische Spezialisierung des echten Mehltaus (*Erysiphe graminis* DC.) von Weizen und Gerste in Deutschland. Phytopath. Z. **31**, 85—107.
10. Powers, Jr., H. R., and J. G. Moseman, 1957: Pathogenic variability within cleistothecia of *Erysiphe graminis*. Phytopathology **47**, 136—138.
11. Ulonska, E., 1953: Die Bedeutung der Mehltauresistenz in der Gerstenzüchtung und Stand der Rassenverbreitung im Bundesgebiet. Landw. Jb. Bayern **30** (Sonderheft Juni), 209—228.

Aus dem Institut für Pflanzenkrankheiten
der Rheinischen Friedrich-Wilhelm-Universität Bonn
Direktor: Prof. Dr. H. Braun

Über den Wurzelbrand der Zuckerrübe und seine Bekämpfung[1])

Von

H.-H. Nölle

Mit 9 Abbildungen

Inhalt: A Einleitung. — B Untersuchungen über die Pathogenität und Bekämpfung von *Pythium* und *Phoma*. I. Material und Methoden. II. Freilandversuche und Beobachtungen. III. Gewächshaus- und Laborversuche. 1. Bedeutung des Saatgutes a) für *Pythium*-Befall, b) für *Phoma*-Befall; 2. Einfluß abiotischer Faktoren a) auf unterirdische Infektionen, aa) Bodentemperatur, bb) Bodenfeuchtigkeit, cc) Bodenart; b) auf oberirdische Infektionen; 3. Einfluß biotischer Faktoren a) auf *Pythium*- und *Phoma*-Befall, b) Einfluß von *Phoma* auf *Pythium*, c) Wirkung der Beizung in Abhängigkeit vom Erreger, aa) von *Phoma*, bb) von *Pythium*, d) Wirkung der Beizung in Abhängigkeit vom Wirt, e) Versuche zur Hg-Wirksamkeit. — C Diskussion. — Zusammenfassung. — Summary. — Literaturverzeichnis.

A. EINLEITUNG

Nach der Infektionsquelle lassen sich die pilzlichen Wurzelbranderreger in zwei Gruppen einteilen. Zur Gruppe der samenbürtigen Erreger gehören *Phoma betae* Frank, *Macrosporium cladosporioides* Desm. und *Alternaria tenuis* Nees (Peters 1905 bis 1908, Greis 1939, 1940). Im Hinblick auf die überragende Bedeutung von *Phoma betae* werden die samenbürtigen Erreger im Rahmen dieser Arbeit unter *Phoma* zusammengefaßt.

In der Gruppe der bodenbürtigen Erreger darf man der Gattung *Pythium* den maßgeblichen Anteil am Wurzelbrand zusprechen. In dieser Gattung nimmt *P. de Baryanum* Hesse die erste Stelle ein (Busse, Peters u. Ulrich 1908). Neben ihm werden genannt: *P. ultimum* (Throw 1901, Drechsler 1929, Gates u. Hull 1954), *P. mamillatum* (Meurs 1928), *P. irregulare* Buism. (Girginkoç 1951), in den USA *P. aphanidermatum* (Hills u. Leach 1954)

1) Die Untersuchungen sind mit Unterstützung des Ministeriums für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten des Landes Nordrhein-Westfalen durchgeführt worden, dem für die Gewährung von Mitteln ergebenst gedankt sei. Den Farbenfabriken Bayer, Leverkusen, habe ich für manche wertvolle Hilfe zu danken.

und *Rhizoctonia solani* (Duggar u. Stewart 1909, Edson 1915, Coons u. Stewart 1927, Campbell 1940, Gerhold 1957). Aus der ebenfalls als bodenbürtig geltenden Gattung *Aphanomyces* ist für die deutschen Anbauverhältnisse nur *A. laevis* nachgewiesen (Greis 1942, Heinze 1953). In den Vereinigten Staaten von Amerika mißt man *A. cochlioides* größere Bedeutung bei (Drechsler 1929, Buchholtz 1944, Coons, Kotila u. Bockstahler 1948, Warren 1948, Hills u. Leach 1954).

Seitdem Busse, Peters u. Ulrich (1908) *Phoma betae* als häufigsten Erreger nachgewiesen hatten, bemühte man sich um geeignete Mittel und Methoden der Saatgutbeizung. Obwohl Gram 1926, Coons u. Stewart 1927, Schmidt 1928, Plaut 1929, Terényi 1929, Woodward u. Weston 1929 gute Erfolge mit Naß- und einigen neuentwickelten Trockenbeizmitteln erzielten, traten immer noch, teilweise erhebliche, Wurzelbrandschäden hauptsächlich in Mittel-, Ost- und Norddeutschland, weniger im Rheinland auf (Mitt. B. R. A. 1920 bis 1930). Die sich gegen eine Beizung aussprechenden Stimmen verstummten deshalb nicht (Arrhenius 1925, Plaut 1926, Stehlik u. Neuwirth 1929).

Nachdem verbesserte Trockenbeizmittel entwickelt worden waren, die auch gegen frühe bodenbürtige Infektionen eine begrenzte Sekundärwirkung besaßen, wie sie Greis 1942 endgültig nachwies, nahm die Zahl der Befürworter des Beizens zu; Riehm (1937) dagegen verhielt sich immer noch ablehnend. Überall, wo Beizung und hygienische Maßnahmen durchgeführt wurden, ergaben sich jahrzehntelang sehr gute (Schmidt, Berg, Contzen, Peill, Komp u. Gerhards 1958), wenn auch nicht immer sichere Erfolge (Pflanzenschutzamt Bonn 1955).

Im Frühjahr 1955 trat an einigen Orten des Rheinlandes Wurzelbrand auf. Umbruch und Neuansaat waren in einigen Fällen nicht zu umgehen. Das Saatgut war in den Zuckerfabriken mit quecksilberhaltigen, organischen Trockenbeizmitteln behandelt worden. Ordnungsgemäße Beizung vorausgesetzt, mußte der samenbürtige Erreger als hinreichend sicher abgetötet angenommen werden (Hansen 1929, Oberdorfer 1930, Fischer 1931, Schmidt 1934, Anderson, Kadow u. Hopperstead 1937, Decoux, Vanderwaeren u. Roland 1935, Porter u. Rice 1940, Pichler 1941, Greis 1942, Afanasiew u. Morris 1942, Leach 1948, Coons, Kotila u. Bockstahler 1948), der Schaden ausschließlich bodenbürtigen Infektionen zur Last gelegt werden.

Über die Bedingungen bodenbürtiger Wurzelbrandinfektionen liegen zum Teil sehr voneinander abweichende Ergebnisse aus zahlreichen Beobachtungen und Untersuchungen vor (Stift 1900, L. P. 1903, Guttmann 1904, Brien 1905, Kleuker 1905, Vibrans 1905, Busse, Peters u. Ulrich 1908, Arrhenius 1924, Esmarch 1925, Zutavern 1926, Gram 1927, Coons u. Stewart 1927, Gäumann 1928, Terényi 1929, Schaffnit u. Meyer-Herrmann 1930, Tompkins u. Park 1932, Buchholtz 1938, Greis 1942, Leach 1947, Jacks 1951, Zhukova 1953, Gates u. Hull 1954). Aus ihnen muß auf eine Begünstigung des Auftretens durch tiefe Temperaturen, große Feuchtigkeit oder Trockenheit und Bodenverdichtungen, die ein Auflaufen der Rübenkeimlinge verzögern, geschlossen werden.

Das unerwartete Auftreten vermutlich bodenbürtigen Wurzelbrandes auf unterschiedlichen Standorten nach vorschriftsmäßiger Beizung gab Anlaß, folgenden Fragen nachzugehen:

1. In welchem Ausmaß treten *Pythium* und andere bodenbürtige Erreger auf?
2. Inwieweit werden bodenbürtige Infektionen von Bodenart, Bodenzustand und Bodentemperatur beeinflußt?
3. Können andere abiotische und biotische Faktoren von maßgeblichem Einfluß sein?
4. Kann eine Beizwirkung gegenüber *Phoma* als ausreichend gesichert angesehen werden?

Hieraus ergaben sich, nachdem in letzter Zeit neue, metallfreie organische Wirkstoffe wie Thiram, Captan, Dichlone, Chloranil und COBH (Cerenox) entwickelt waren, zwei grundlegende Fragen:

5. Wie ist die Wirksamkeit von metallhaltigen im Vergleich zu metallfreien organischen Beizmitteln gegenüber bodenbürtigen Infektionen zu beurteilen?
6. Ist die Beizung für die Verhältnisse des Rübenanbaues eine zwingende Notwendigkeit?

B. UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE PATHOGENITÄT UND BEKÄMPFUNG VON *PYTHIUM* UND *PHOMA*

I. Material und Methoden

Für Untersuchungen von Keimlingskrankheiten im Gewächshause wurde gewöhnliche, mit *Pythium* spontan verseuchte Komposterde in natürlichem und in sterilisiertem Zustand sowohl mit als auch ohne künstliche *Pythium*-Verseuchung verwandt. Ihr pH-Wert betrug 6,9.

Der Boden wurde in mittelfeuchtem Zustande zweimal im Abstand von 48 Stunden zwei bis vier Stunden lang trocken auf 95 °C erhitzt. Anschließend konnte er sofort verwendet werden; Keimung und Wachstum der Rübenkeimlinge wurden nicht beeinflußt (Greis 1940). Als Versuchsgefäße dienten viereckige Tonschalen von 3,5 Liter Inhalt. Je Schale wurden im Abstand von 3,5 cm 50 Rübenknäuel mit einem Stempel in gleichmäßige Tiefe von 3 cm eingedrückt.

Für die *Pythium*-Untersuchungen standen *Pythium de Baryanum* Hesse und *Pythium ultimum* Throw aus dem Centralbureau voor Schimelkultures Baarn sowie eine eigene Isolierung aus einer Rübenpflanze zur Verfügung. Da die beiden ersten übereinstimmende Pathogenität zeigten, wurden nur *P. de Baryanum* aus Baarn als Herkunft I und die eigene Isolierung als Herkunft II verwendet. Die Pilze wurden auf Biomalznährböden (2,5 v. H. Biomalz, 2 v. H. Agar, pH-Wert 5,3) kultiviert.

Die Anzucht zur Bodenverseuchung erfolgte bei geringer Abänderung nach Methode I von Frohberger (1956).

In sämtlichen Versuchen wurde 3,2 bis 4,2 mm kalibriertes Knäuelsaatgut verwendet.

Aus vorhandenen Proben wurden die in Tabelle 1 aufgeführten sieben Saatgutmuster verwendet.

Für Untersuchungen mit bodenbürtigen Erregern mußten die Knäuel von *Phoma*-Myzel und -Konidien durch Desinfektion befreit sein, wobei ein Desinfektionsmittel zu verwenden war, das keinen bodenbürtige Erreger hemmenden Rückstand hinterließ und samen- und keimlingsverträglich war.

Tabelle 1

Charakterisierung des Knäuel-Saatgutes nach Anfälligkeit für *Pythium* und Verseuchung mit *Phoma*.

$\bar{x}$ des gesunden Endbestandes v. H. des Erwartungswertes[1]); i = 50 Knäuel

Saatgut Sorte	Ernte-jahr	Erw. wert	Anfälligkeit (*Pythium*)				Verseuchung (*Phoma*)		
			nat. v. H.	ster. v. H.	*N*	Beurt.	ster. v. H.	*N*	Beurt.
I Kl. Wanzl. E	1955	82	35	5	16	groß	20	8	groß
II Kl. Wanzl.	1954	80	40	6	6	groß	80	4	gering
III Kl. Wanzl. E	1956	76	72	15	20	mittel	67	8	mittel
IV Dippes E	1956	85	73	15	10	mittel	28	18	groß
V Kl. Wanzl. N	1957	65	72	—	8	mittel	32	8	groß
VI Kl. Wanzl. KW	1957	86	80	—	4	mitt.-ger.	69	4	mittel
VII Kl. Wanzl. N	1957	85	—	10	4	—	38	4	mittel

[1]) Unter Erwartungswert ist die Anzahl gesunder Pflanzen aus 50 brombehandelten Knäueln in sterilisiertem Boden zu verstehen.

In Vorversuchen erwies sich Brom wegen seines hohen Dampfdruckes als sehr geeignet. Die in einer 1 Vol.-prozentigen Lösung von Brom in destilliertem Wasser 30 Minuten lang behandelten Knäuel wurden mehrmals gründlich in dest. Wasser gespült und im Thermostaten bei 40 ° bis 45 °C getrocknet. Keimfähigkeit und -geschwindigkeit wurden durch die Wassereinwirkung nicht erhöht (siehe auch BARTL 1957).

Als Beizmittel wurden benutzt:

1. Cerenox = 10 v. H. Chinonoxim-benzoylhydrazon (COBH) 3 mg/g
2. Germisan = Phenylmercuribrenzkatechin (Hg) 6 mg/g
3. Cerenox-Spezial = 10 v. H. COBH + 3 v. H. Phenylmercurichlorid 3 mg/g
4. Tiulin = Tetramethylthiuramdisulfid (TMTD) 6 mg/g
5. 4715 Komb. = TMTD + COBH 6 mg/g
6. TB 4362 c = 3 v. H. PMA + Spurenelemente (Cu, B, Mn) 6 mg/g
7. Alkyl = Äthyl-Hg 6 mg/g

Ein Versuchsglied bestand, falls nicht anders angegeben, aus vier Wiederholungen = vier Schalen = 200 Knäueln.

Der Boden wurde durch Gießen reichlich feucht gehalten, so daß ein durchschnittlicher Wassergehalt von 50 bis 80 % der W.K. gewährleistet war.

Abgesehen von den Temperaturversuchen wurden die Erdschalen sämtlicher Versuche, bis ungefähr 50 % der Pflänzchen in der Kontrolle aufge-

laufen waren, bei konstanter Temperatur von 12 °C und relativer Luftfeuchtigkeit von 85 bis 95 % in vollautomatischen Klimakammern untergebracht und anschließend ins offene bzw. geschlossene Gewächshaus umgestellt. Die dann schwankenden Temperaturen blieben auf den Endbestand der Pflanzen ohne Einfluß. Da nach Anlage der ersten Laubblätter — 14 bis 21 Tage nach Auflauf — keine Pflanzen mehr abstarben, wurde in diesem Stadium die Endauszählung vorgenommen. Um Auflauf und Verlauf der Erkrankungen verfolgen zu können, wurden die Auszählungen in kurzen Abständen wiederholt, wobei sich die Methode Frohberger (1956) gut bewährt hat. Der Infektionserfolg bzw. Befall eines Wurzelbranderregers wurde an der Anzahl der abgestorbenen Pflanzen gemessen, die sich aus der Differenz zwischen Anzahl gesunder Pflanzen und Erwartungswert ergab. Statt der abgestorbenen ist in sämtlichen Tabellen mit einigen Ausnahmen nur der Endbestand gesunder Pflanzen angegeben.

Soweit der Nachweis eines Erregers in der kranken oder abgestorbenen Pflanze erforderlich war, wurde ein Stückchen des Hypokotyls auf Biomalznährboden ausgelegt. Eine vorausgehende Oberflächendesinfektion erwies sich als nachteilig.

Zur Prüfung des Bodens auf *Pythium*-Verseuchung diente die runzlige Markerbse „Wunder von Weißenfels", die einheitlich mit 2 mg/g gebeizt wurde.

Im Feldversuch wurden die Knäuel auf 10 × 42 bzw. 50 cm 3 cm tief ausgelegt. Die Aussaat erfolgte zu dem frühestmöglichen, an einigen Orten auch zum ortsüblichen Termin.

Jede Parzelle enthielt 100 Knäuel; ein Versuchsglied umfaßte acht Wiederholungen. Die Parzellen wurden nach dem lateinischen Quadrat oder Rechteck angeordnet (Mudra 1952).

Bei der biologisch-statistischen Auswertung wurden Differenzen zwischen den Mittelwerten zweier unabhängiger Normalverteilungen mit dem t-Test, zwischen mehreren Mittelwerten mit dem R-Test nach Duncan (Weber 1956, S. 226) geprüft. Für die varianzanalytische Auswertung wurden sämtliche Einzelwerte nach $y = \sqrt{x}$ bzw. $y = \sqrt{x + 0{,}5}$ (Weber 1956, S. 275) transformiert, weil die Verteilung der Einzelwerte einer Poisson-Verteilung (Wette 1958) entsprach und zum Teil Inhomogenität der Streuungen vorlag. Prozentzahlen wurden nach $y = \text{arc sin } x$ nach Bliss transformiert (Snedecor 1946, S. 445). Zahlenwerte aus Versuchen mit weniger als vier Wiederholungen wurden mit der χ^2-Häufigkeitsanalyse analysiert. Als Zeichen dienten:

$\bar{x}$	=	arithmetisches Mittel
$\bar{x}\,..$	=	arithmetisches Mittel aus mehreren $\bar{x}$
s^2	=	Varianz
$s^2_{\bar{x}}$	=	Varianz der Mittelwerte
N	=	Anzahl der Einzelwerte = Wiederholungen
i	=	Anzahl der Knäuel bzw. Erbsensamen je N
n	=	Anzahl der Freiheitsgrade
P	=	Überschreitungswahrscheinlichkeit
t, F, χ^2	=	Testgrößen der entsprechenden Verteilungen

Differenzen mit einer Überschreitungswahrscheinlichkeit von

$P > 0{,}05$	gelten als nicht gesichert	°
$P < 0{,}05$	gelten als sehr schwach gesichert	(*)
$P < 0{,}025$	gelten als schwach gesichert	*
$P < 0{,}01$	gelten als gesichert	**
$P < 0{,}001$	gelten als gut gesichert	***

II. Freilandversuche und Beobachtungen[1])

Um eine Reproduktion der Verhältnisse des Jahres 1955 zu erhalten, wurden im Frühjahr 1956 auf verschiedenen Bodenarten an neun Orten im Kölner und Bonner Gebiet Feldversuche angelegt. Insbesondere in Orr, Ingendorf und Puhlheim hatte der Wurzelbrand größere Schäden hervorgerufen.

Die Versuchsstellen lagen innerhalb von Rübenschlägen, die alle vier bis fünf Jahre mit Rüben bebaut werden. Die Nährstoffversorgung der Böden war gut, ihre pH-Werte lagen zwischen 6,5 und 7,3.

Vom 22. März bis 24. April 1956 wurde Saatgut I ausgelegt. Die Keimlinge benötigten bis zum Auflaufen je nach Aussaattermin 10 bis 25 Tage.

Die Ergebnisse des Versuchs in Leverkusen, Giesdorf und Orr sind in Tabelle 2 zusammengestellt. Die mehrmalige Bonitur ließ eindeutig erkennen, daß der weitaus größte Teil der Keimlinge vor Erreichung der Bodenoberfläche abstarb.

Die ungebeizten Parzellen zeigten umfangreiche Infektionen und Erkrankungen. Vergleichsweise wiesen die Germisan-Parzellen einen reichen, gesunden Pflanzenbestand auf, der bei Berücksichtigung der jeweiligen örtlichen Bodenstruktur als normal gelten mußte. Da sich Germisan nach GREIS (1942) in erster Linie durch hohe Schutzwirkung gegen *Phoma* auszeichnet, konnte vermutet werden, daß der Befall überwiegend durch *Phoma* verursacht worden war, Infektionen vom Boden aus aber nur in geringem Umfange erfolgt waren, ein Ergebnis, das durch Rückisolierungen im Labor bestätigt wurde.

Die Auswertung der Ergebnisse nach der mehrfachen Varianzanalyse in Tabelle 3 zeigt, daß die Wirkung der Beizmittel vom Aussaattermin (W.W.: Beiz. × Term.), entsprechend verschieden langen Auflaufzeiten, und von der Bodenart (W.W.: Beiz. × Ort) abhängig war. Nach Frühsaat liefen mit Ausnahme von Leverkusen signifikant mehr Pflänzchen auf als nach der II. Aussaat. Die enge Wechselwirkung zwischen Orten und Aussaatterminen deutete auf mechanische Beeinflussung des Wachstums der Rübenkeimlinge durch verschiedene Bodenstrukturen und deren jeweiligen Zustand während frühzeitiger und später Aussaat, ohne daß die Möglichkeit geringfügiger Unterschiede in der Verseuchung mit bodenbürtigen Erregern ausgeschlossen war.

[1]) Für die freundliche Unterstützung sei den Herren Landwirten JUNGEN (Orr), WERY (Giesdorfer Höfe), HERZOGENRATH (Ingendorf), PESCH (Roggendorf), MÜLLER (Mutzenrath), DECKER (Puhlheim) und HILGERS (bei Puhlheim) herzlich gedankt.

Tabelle 2

Mittelwerte von Auflaufstellen (A) und Pflanzen (P) mehrmals bonitierter Versuche 1956

I = früheste, II = ortsübliche Aussaat; b = insgesamt aufgelaufen, d = Endbestand, b—d = nach Auflauf abgestorbene Pflanzen. $N = 8$; $i = 100$

		Ort: Leverkusen				Giesdorf				Orr			
		Aussaattermin: I 22. 3.		II 19. 4.		I 23. 3.		II 4. 4.		I 27. 3.		II 5. 4.	
		b	d	b	d	b	d	b	d	b	d	b	d
Ungebeizt	A	54	46	65	63	42	36	13	13	30	28	20	18
	P	78	64	98	94	60	50	17	16	38	35	27	25
Germisan	A	82	78	86	85	82	76	43	41	71	68	64	63
	P	142	127	150	147	141	127	77	73	116	112	100	95
Tiulin	A	81	78	85	83	81	76	52	48	72	71	65	60
	P	135	126	149	144	140	127	84	79	115	110	92	85
Cerenox (COBH)	A	65	56	69	67	49	42	21	19	38	36	35	31
	P	98	79	118	114	71	62	31	29	53	49	46	41

Tabelle 3

Varianzanalytische Auswertung mit $\sqrt{x}$-transformierten Einzelwerten

Variabilität	SQ	n	s^2	F	5 %	1 %	0,1 %
Total	1095,318	191					
Un+CO/Hg+TMTD	565,744	1	565,744	***			11,0
Beiz. Un/CO	30,895	1	30,895	114,29***			11,0
Hg/TMTD	0,199	1	0,199	1,35°	3,90		
Ort	256,795	2	128,397	475,01***			7,0
Termin	31,364	1	31,364	116,03***			11,0
Un/Geb.	0,018	1	0,018	15,02°	254,0		
Beiz. × Term. CO/HG + TMTD	2,244	2	1,122	4,15*	3,05	4,7	
Beiz. × Ort	27,950	6	4,658	17,23***			3,9
Term. × Ort	131,007	2	65,503	242,34***			7,0
Beiz. × Ort × Term.	3,686	6	0,614	2,27*	2,15	2,9	
Rest	45,414	168	0,270				

Auf allen übrigen Böden zeigten die gebeizten Parzellen mit Ausnahme von COBH einen den Bodenverhältnissen entsprechenden normalen Pflanzenbestand, der keine wesentlichen bodenbürtigen Infektionen erkennen ließ. Deshalb wurden die Freilandversuche in den beiden folgenden Jahren auf das Bonner Versuchsfeld beschränkt (Tab. 4).

Tabelle 4

Feldversuche Bonn 1956 bis 1958; $\bar{x}$ des Endbestandes

	1956	1957				1958		
	Aussaat							
	1.	1.[1])	2.	1.[1])	2.[2])	1.	2.	
	Datum							
	26. 3.	22. 3.	12. 4.	22. 3.	12. 4.	3. 4.	23. 4.	
	Auflauf nach Tagen							
	23	20	12	20	12	19	11	
Saatgut	I	I	I	III	IV	VI	VI	$\bar{x}$..
N	8	8	8	8	8	4	4	
Ungebeizt	42	40	102	9	59	83	106	58,4
Brom	—	70	132	30	81	99	115	84,0
Cerenox (COBH) ..	61	63	116	13	73	90	106	71,1
Germisan (Hg)	107	68	119	24	92	101	119	85,8
Cerenox Spez.	117	68	131	24	82	111	112	87,7
Tiulin	115	—	—	24	85	117	120	83,7
Brom + COBH ...	—	—	—	20	82	114	121	—
Brom + Germisan .	—	—	—	29	81	—	—	—
Alkyl	—	—	—	—	—	113	113	—

[1]) Boden stark verschlämmt. [2]) Moosknopfkäferbefall.

Im Frühjahr 1958 führten die Beizungen des schwach *Phoma*-verseuchten Saatgutes VI früher und später Aussaaten zu den gleichen normalen Pflanzenbeständen wie im Jahr 1956. Nur während des verhältnismäßig feuchten, warmen Monats Mai 1958 zeigte ein Teil der zwei- bis vierblättrigen Pflanzen auf allen Parzellen der ersten Aussaat Wurzelbrandsymptome, die jedoch später ausheilten. So blieben auch 1958 die bodenbürtigen Erreger unbedeutend.

Da der zweite Aussaatversuch 1957 mit Germisan-gebeiztem Saatgut I die gleichen Ergebnisse lieferte wie der 17 Tage frühere 1956 und der elf Tage spätere 1958, muß geschlossen werden, daß auch 1957 die bodenbürtigen Erreger nicht pathogen geworden sind.

In den übrigen drei Versuchen des Jahres 1957 zeigt die übereinstimmende Wirkung von Brom, Germisan und Brom + Germisan mit Saatgut III und IV, daß auch nicht frühe bodenbürtige Infektionen einsetzten; denn Germisan verhindert diese, wie später noch dargelegt wird.

Die Infektionen mit *Phoma* — gemessen an der Differenz : Germisan-ungebeizt — waren 1957 an Saatgut I erster und zweiter Aussaat bedeutend geringer als 1956, obwohl in beiden Jahren das gleiche Saatgut ausgelegt worden war. Späteren Laborversuchen war zu entnehmen, daß es sich um einen Rückgang der *Phoma*-Pathogenität infolge Überlagerung handelte.

An sieben Orten besaßen im Jahre 1956 Germisan (Hg) sowie Tiulin, Cerenox-Spezial, 4715 Komb., TB 4362°c und Alkyl immer eine zufrieden-

stellende Wirkung auf *Phoma*. Wesentlich geringer war, wie auch in Tabelle 2 und 4 erkennbar ist, die Wirkung von Cerenox (COBH). Durch die Beizung nahm die Anzahl von Auflaufstellen[1]) und gesunden Pflanzen zu. Die Zahl der letzteren erhöhte sich jedoch mehr, als nach dem bisherigen Verhältnis von Auflaufstellen zu Pflanzen bei ungebeizt zu erwarten wäre. Die Beizung bewirkte in erster Linie eine Zunahme von gesunden Keimlingen aus denjenigen Knäueln, die bereits eine gesunde Pflanze ohne Beizung hervorbrachten.

Die dreijährigen Feldversuche haben demnach eindeutig gezeigt, daß bodenbürtige Erreger nicht pathogen wurden. Nach Angaben mehrerer Betriebe, die jährlich 50 bis 100 ha Zuckerrüben anbauen, wurden jahrzehntelang keine Schäden durch bodenbürtige Pilze auf optimalen Rübenböden innerhalb des westlichen Rheinlandes beobachtet. Ich konnte in Orr 1957 und 1958 feststellen, daß bodenbürtige Infektionen mittleren Umfangs von der Pflanze durch Bildung neuer Seitenwurzeln überwunden wurden. Es handelt sich um Rübenschläge, die entweder gar nicht oder im Frühjahr bemistet worden waren und sich in einem unzureichenden Garezustand befanden. Gleichzeitig kam es zu zahlreichen *Phoma*-Infektionen, obwohl das Saatgut mit Cerenox-Spezial in der Zuckerfabrik gebeizt worden war.

III. Gewächshaus- und Laborversuche

Das Ausbleiben bodenbürtiger Infektionen im Feldversuch 1956 führte zu der Frage:

Unter welchen Bedingungen werden bodenbürtige Erreger pathogen beziehungsweise welche Faktoren hemmen ihre Aggressivität?

Von den bodenbewohnenden Erregern mißt man unter unseren Anbauverhältnissen nur der Gattung *Pythium* Bedeutung bei. Dieser Name wird deshalb weiterhin für alle bodenbürtigen Erreger verwendet. Zum Vergleich und zur Klärung der in den Feldversuchen beobachteten unzureichenden Cerenox-Wirkung wurde *Phoma* in die Untersuchungen einbezogen.

1. Bedeutung des Saatgutes

a) für *Pythium*-Befall

Um eindeutig beurteilen zu können, ob die sieben Saatgutmuster unterschiedlich anfällig für *Pythium* sind, wurde *Phoma*-Befall durch Brombeizung ausgeschaltet. Die sieben Muster zeigten in natürlicher, *Pythium*-haltiger und in sterilisierter, künstlich mit *Pythium* verseuchter Komposterde unterschiedlich hohen Befall (Tab. 1). In letzterer war er bei Saatgut I und II etwas größer als bei III und IV. In ersterer war er allgemein geringer (vgl. Jaarsveld 1944, Likais 1948, Vasudeva 1953), wobei Unterschiede zwischen I und II einerseits, III, IV, V und VI andererseits klar hervortraten.

Zur Frage, ob die Disposition innerhalb desselben Saatgutes mit der Knäuelgröße korreliert, wurde Saatgut III in drei Kalibrierungen aufgeteilt,

[1]) Eine Auflaufstelle birgt ein Knäuel, aus dem ein oder mehrere Keimlinge auflaufen.

von denen jede im Durchschnitt ein, zwei oder zwei bis drei Samen je Knäuel enthielt, und in natürlichen, *Pythium*-haltigen Boden ausgesät.

Die Zahlen gesunder Pflanzen der drei Kalibrierungen unterschieden sich nicht.

b) für *Phoma*-Befall

In Tabelle 1 ist der *Phoma*-Besatz der sieben Saatgutmuster charakterisiert. Die Unterschiede in der *Phoma*-Verseuchung waren größer als die der Anfälligkeit für *Pythium*. Auch die *Phoma*-Verseuchung ließ keine Beziehung zur Knäuelgröße erkennen.

NEWTON und BOSHER (1946) haben einen Rückgang des *Phoma*-Befalls nach fünfjähriger, GREIS (1942) nach zweijähriger Lagerung beobachtet. In meinen Feldversuchen waren bei Verwendung von Saatgut I 1957 weitaus weniger Pflanzen als 1956 durch *Phoma* abgestorben. Das aus der Ernte 1955 stammende Saatgut lagerte eineinhalb Jahre. Die Frage lag nahe, ob hier ähnliche Verhältnisse gegeben waren. Zu ihrer Beantwortung und um gleichzeitig zu untersuchen, ob sich verschiedene *Phoma*-Herkünfte im Grad ihrer Pathogenität unterscheiden, wurden Saatgut I, III und IV in sterilisierte Erde eingelegt.

Tabelle 5

$\bar{x}$ des Endbestandes v. H. der Kontrolle
A = gesunde, B = infizierte, aber gesundete Pflanzen;
A + B = nicht abgetötete Pflanzen. $N = 4$

Behandlung		Saatgut I 1956	Saatgut I 1957	Saatgut III 1957	Saatgut IV 1957
Kontrolle (Brom) ..	A	82	82	64	85
	B	2	2	0	0
	A+B	84	84	64	85
Ungebeizt v. H. ...	A	12	19°	29	16°
	B	8	42**	50	11**
	A+B	20	61	79	27
COBH[1]) v. H.	A	26	35°	42	23*
	B	9	40**	43	17**
	A+B	35	75	85	40
COBH — Ungebeizt	A + B	15	14	6	13°

[1]) Zu Seite 181.

Wie die übereinstimmenden Zahlen der Kontrolle für Saatgut I (Tab. 5) zeigen, hat sich der Erfolg der Brombeizung 1957 gegenüber 1956 nicht geändert. Der Endbestand gesunder Pflanzen (A) des Saatgutes I v. H. der Kontrolle stimmte 1956 und 1957 überein, die Zahl der infizierten, jedoch gesundeten (B) war dagegen 1957 bedeutend größer als 1956. Infolge der gleichen Anzahl der ersteren muß die Zahl der verseuchten Knäuel gleich

geblieben sein. Die Zunahme der gesundeten Pflanzen kann also nur auf Rückgang der Pathogenität zurückzuführen sein, da mit einer Änderung der Anfälligkeit des Wirtes nach meinen Erfahrungen mit *Pythium* nicht gerechnet zu werden braucht.

Die Zahlen gesunder Pflanzen (A) aus ungebeiztem Saatgut III und IV stimmen überein, die Verseuchung war demnach gleich. Die Zahl nicht abgetöteter Pflanzen ist dagegen bei IV niedriger als bei III. Daraus kann auf unterschiedliche Pathogenität beider *Phoma*-Herkünfte geschlossen werden.

2. Einfluß abiotischer Faktoren

a) auf unterirdische Infektionen

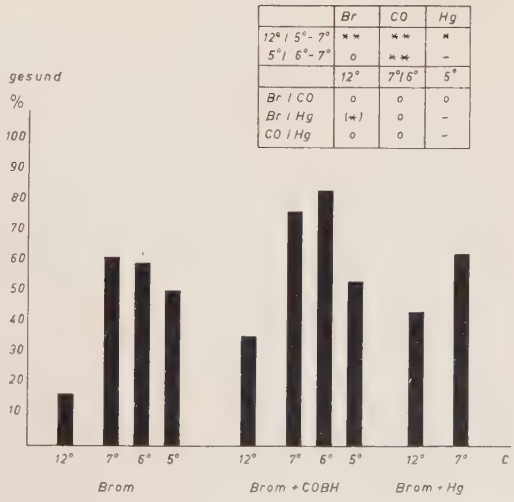
aa) Bodentemperatur

Während der heute üblichen frühzeitigen Rübenbestellung (Klapp 1954) herrschen Bodentemperaturen von durchschnittlich 5 ° bis 7 °C; entsprechend betragen die Auflaufzeiten 19 bis 27 Tage.

Über den Einfluß der Temperatur auf *Pythium*- und *Phoma*-Befall finden sich in der Literatur (Buchholtz 1938, Leach 1947, Greis 1942 und Gates und Hull 1954) widersprechende Angaben.

Ich hatte in Vorversuchen bei mittleren Temperaturen von 12 °C beobachtet, daß zwei Beizmittel einem hochaggressiven *Pythium* gegenüber wirkungslos geblieben waren. Das legte die Frage nahe, ob bei Herabsetzung der Temperatur und damit verringerter Aggressivität eine Beizwirkung zu erzielen war. In Anlehnung an Leach (1947) wählte ich 12 °C als mittlere Temperatur, die einen ausreichenden Infektionserfolg mit *Pythium* gewährleistet. Ihr wurden Temperaturen von 5 ° bis 7 °C vergleichend gegenübergestellt. Die durchschnittliche Auflaufdauer beträgt bei 12 ° 11 Tage, bei 7 ° 19 Tage, bei 6 ° 23 Tage, bei 5 ° 26 bis 28 Tage. Nach Auflaufbeginn wurden die Schalen im Gewächshaus aufgestellt.

Als Beizmittel gegen *Pythium* dienten Cerenox (COBH) aus der Gruppe der metallfreien organischen und Germisan (Hg) als eine der gebräuchlichen organischen, quecksilberhaltigen Verbindungen. Ersteres wurde einbezogen, weil es nach Frohberger (1956) eine intraplantäre Wirkung vermuten läßt.



	Br	CO	Hg
12° / 5°- 7°	××	××	×
5°/ 6°- 7°	0	××	-
	12°	7°/6°	5°
Br / CO	0	0	0
Br / Hg	(×)	0	-
CO / Hg	0	0	-

Abb. 1. Pathogenität von *Pythium* und Beizerfolg in sterilisiertem Boden bei 5 ° bis 12 °C. Saatgut III. Ordinate: $\bar{x}$ des Endbestandes v. H. des Erwartungswertes. Abszisse: Temperaturen in °C und Saatgutbehandlung. $N = 4$

Abbildung 1 und 2 stellen den Infektionserfolg von *Pythium* und *Phoma* in sterilisiertem Boden dar. Nach Ausscheidung von *Phoma* durch Brombehandlung blieben (Abb. 1) bei 12 ° nur 17 %, bei 7 °, 6 ° und 5 °C 51 bis 62 % Pflanzen gesund. Der *Pythium*-Befall war demnach bei hoher Temperatur hoch, bei den niedrigen Temperaturen gering.

Den Temperatureinfluß auf den *Phoma*-Befall zeigt das ungebeizte Versuchsglied (Abb. 2). Bei 12 °C wurden ebenso viele Pflanzen abgetötet wie im *Pythium*-Versuch. Bei tiefen Temperaturen nahm der Befall im Gegensatz zu *Pythium* signifikant zu. Die Kontrolle mit *Phoma*-freiem Saatgut (Brombehandlung) im *Pythium*-freien Boden zeigte, daß die Anzahl der auflaufenden Pflanzen durch die Temperatur nicht verändert wurde.

Der größere Pflanzenbestand nach einer COBH- und Hg-Beizung zur Ausschaltung von *Pythium* (Abb. 1) ließ sich statistisch nicht sichern. Dagegen bot Hg-Beizung gegen *Phoma* unabhängig von der Temperatur einen fast hundertprozentigen Schutz (Abb. 2).

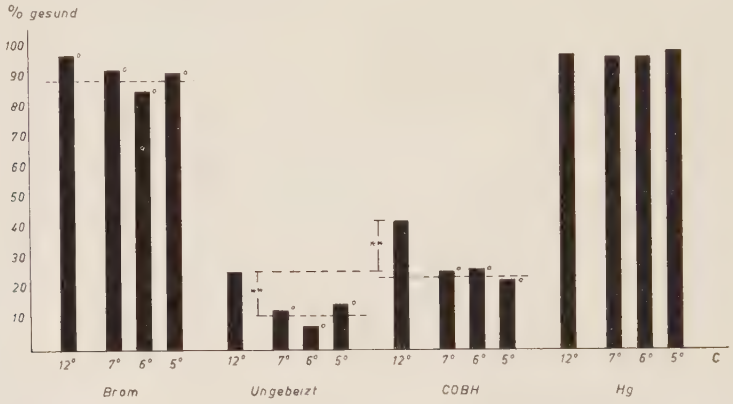


Abb. 2. Pathogenität von *Phoma* und Beizerfolg in sterilisiertem Boden bei 5 ° bis 12 °C. Saatgut I und IV. Ordinate: $\bar{x}$ des Endbestandes v. H. des Erwartungswertes. Abszisse: Temperatur in °C und Saatgutbehandlung. $N = 4$

Die Wirkung von COBH lag beachtlich unter der des Hg. Bei niedrigen Temperaturen und damit langen Auflaufzeiten fiel sie noch mehr ab.

Die Verhältnisse in natürlichem, spontan mit *Pythium* allein verseuchtem Boden zeigt Abbildung 3.

Bei sämtlichen Temperaturen starben erheblich weniger Pflanzen (20 %) ab als in sterilem Boden. Bei brombehandeltem Saatgut wurde wiederum ein eindeutiger Unterschied zwischen 12 ° einerseits und 7 ° bzw. 6 °C andererseits erkennbar. Mit abnehmender Pathogenität stieg die Beizmittelwirkung an. COBH war bei 12 °C überlegen; bei 7 ° und 6 °C trat kein signifikanter Unterschied auf.

Bisher konnten wir feststellen, daß bei tiefen Temperaturen die Pathogenität von *Pythium* ab-, die von *Phoma* zunimmt. Offen blieb noch die Höhe des Infektionserfolges, wenn beide Erreger gleichzeitig infizieren konnten. Diese Möglichkeit wurde durch Aussaat von reichlich mit *Phoma* verseuchtem Saatgut I in natürlichem, *Pythium*-haltigem Boden geschaffen.

Die Ergebnisse sind in Tabelle 6 aufgeführt:

Tabelle 6

Pathogenität von *Pythium* + *Phoma* in natürlichem Boden bei 12°, 7°, 6 °C

Mittelwerte des Endbestandes. Saatgut I. $N = 4$

	Ungebeizt			Gebeizt					
				COBH			Hg		
	12°	7°	6°	12°	7°	6°	12°	7°	6°
$\bar{x}$ (*Py*+*Pho*)	18	20	38	60	66	64	57	67	71
$\bar{x}$ (*Py*)	30	61	65	74	75	81	63	72	74

Ein Vergleich der Mittelwerte ($\bar{x}_{[Py+Pho]}$,$\bar{x}_{[Py]}$) zeigt, daß durchweg weniger Pflanzen gesund geblieben waren als bei Infektion durch *Pythium* allein. Bei den ungebeizten Proben war nach einem gleichzeitigen Angriff von *Pythium* und *Phoma* der Befall bei 12 ° und 7 ° etwas größer als bei 6 °C. Diese Tendenz bestand auch bei Hg. Varianzanalytische Auswertung und Prüfung im R-Test: COBH und Hg verhinderten Infektionen in gleichem Maße; ihre Wirkung war unabhängig von der Temperatur bzw. Auflaufzeit.

Um zu klären, ob die unterschiedliche Pathogenität von *Pythium* und *Phoma* auf verschiedener Wachstumsgeschwindigkeit beruht, wurden folgende zwei Versuche angestellt. Zunächst wurde die Temperaturabhängigkeit von *Pythium* und *Phoma* in vitro festgelegt. Petrischalen mit je 12 ccm Nährboden (2,5 % Biomalz, 2 % Agar, pH 5,3) wurden mit einer 20 qmm großen myzelbewachsenen Agarscheibe von *Pythium* I und II und *Phoma betae* beimpft und bei 5 °, 7,5 ° und 12 °C gehalten. Die Versuche wurden mit Ausnahme von 7,5 °C dreimal wiederholt. Wegen der Schnellwüchsigkeit von *Pythium* bei 12 °C wurden die Flächen nach drei Tagen mit dem Planimeter ausgemessen.

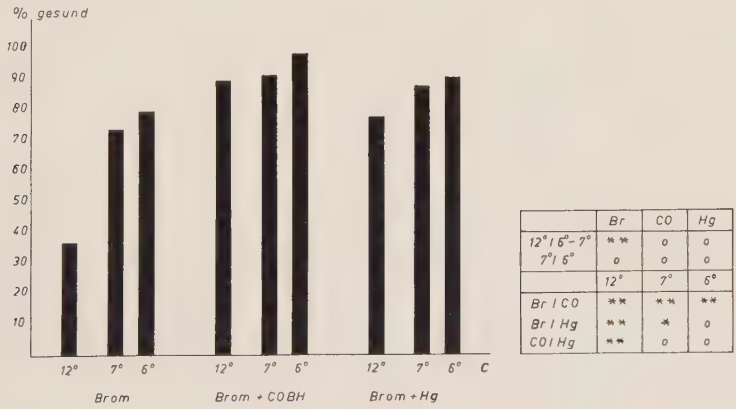


Abb. 3. Pathogenität von *Pythium* und Beizerfolg in natürlichem, spontan verseuchtem Boden bei 6 ° bis 12 °C. Saatgut I. Ordinate: $\bar{x}$ des Endbestandes v. H. des Erwartungswertes. Abszisse: Temperatur in °C und Saatgutbehandlung. $N = 4$

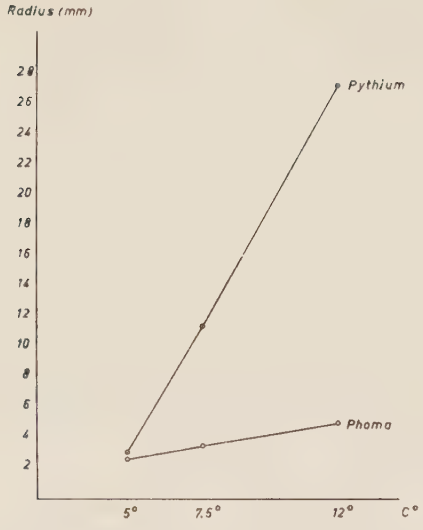


Abb. 4. Wachstum von *Pythium* und *Phoma* in vitro bei 5 °, 7,5 ° und 12 °C nach drei Tagen. Ordinate: Radius in Millimeter der bewachsenen Fläche. Abszisse: Temperatur in °C

Wie die aus Abbildung 4 graphisch bestimmten Regressionskoeffizienten für *Pythium:* $y = 3{,}52\ x - 14$ und für *Phoma:* $y = 0{,}35\ x + 0{,}85$ zeigen, wuchs *Pythium* im Temperaturbereich von 5 ° bis 12 °C je 1 °C Temperaturerhöhung zehnmal so schnell wie *Phoma.*

Zur Kontrolle der Ausbreitung von *Pythium* im Boden bei 5 °C wurde sterilisierte Erde 2 cm hoch in die gebräuchlichen viereckigen Tonschalen gegeben. Die eine Hälfte der Schale wurde mit 50 ccm *Pythium*-Inokulum so vermischt, daß jedes Knäuel sicher mit ihm in Kontakt kommen mußte, die andere Hälfte wurde nur mit der sterilen Erde gefüllt. In den Kontrollschalen wurde das 50-ccm-*Pythium*-Gemisch auf das gesamte Volumen verteilt. Unterschiede im Infektionserfolg waren nicht festzustellen.

bb) Bodenfeuchtigkeit

Pythium-Arten sollen nur dann pathogen werden, wenn der Wassergehalt des Bodens nahe der Wassersättigung liegt (Flor 1940, Roth und Riker 1943, Beach 1949, Wright 1957, Barton 1958). Nach Doran (1946), Jacks (1951) und Zhukova (1953) nimmt die Pathogenität von *Pythium* schon oberhalb 65 % Feuchtigkeit zu. Buchholtz (1938) stellte in gesunden und in überwiegend mit *Pythium de Baryanum* verseuchten Rübenschlägen keinen Unterschied im Wassergehalt fest. Gates und Hull (1954) hingegen konnten eine Zunahme von *Pythium*-Wurzelbrand mit ansteigender Feuchtigkeit beobachten.

Ein von mir durchgeführter Versuch zeigte eine deutliche Pathogenitätserhöhung erst im Bereich der Wassersättigung.

cc) Bodenart

Busse, Peters und Ulrich (1908) haben drei Bodenarten herausgestellt, auf denen der Wurzelbrand besonders stark auftreten soll, ohne daß sie bestimmte Beziehungen zur Bodenbeschaffenheit nachweisen konnten. Gram (1927), Coons und Stewart (1927) sehen die Bedeutung der Bodenart in ihrer physikalischen Eigenart. Die durch sie bedingte Bodendichte, Durchlüftung und Feuchtigkeit soll das Wachstum von Wirt und Erreger beeinflussen. Während in diesen Arbeiten vom Wurzelbrand gemeinhin die Rede ist, spricht Remy (1950) von *Pythium,* das in sämtlichen Böden mit Ausnahme von Ödland- und Waldlandböden verbreitet sei, in Lehmböden stärker als in Sandböden. Angell (1956) isolierte den Pilz vornehmlich aus den obersten

(30 cm) und aus gröberen Bodenschichten. Nach Likais (1948) kann die Aggressivität von *P. de Baryanum* an Kresse und Luzerne von dem Kolloidgehalt des Bodens abhängen; mit vermindertem Kolloidgehalt nimmt die Aggressivität zu.

Da *Pythium* auch in sandigem Lehm in Orr ebenso wie auf den übrigen Versuchsböden 1956 nicht pathogen geworden war, prüfte ich im Oktober 1957 diesen sowie den sandigen Lößlehm des Bonner Versuchsfeldes im Vergleich zu *Pythium*-haltiger Komposterde aus Leverkusen im Gewächshause auf einen etwaigen unterschiedlichen Infektionserfolg entsprechend dem verschiedenen Gehalt an abschlämmbaren und Grobsandteilchen. Die Schlämmanalyse der untersuchten Böden geht aus Tabelle 7 hervor.

Tabelle 7

Schlämmanalysen nach Atterberg, Werte v.H.

	Komposterde	Ackererde	
	Leverkusen	Orr	Bonn
	anlehmiger Sand	sandiger Lehm	sandiger Lößlehm
Abschlämmbares	11,0	25,4	24,8
Feinsand	27,1	47,4	57,3
Mittelkörniger Sand	40,8	21,9	13,7
Grobsand	21,1	5,3	4,2

Komposterde und Boden aus Orr wurden entweder nur sterilisiert oder sterilisiert mit anschließender *Pythium*-Verseuchung oder blieben unbehandelt. Wegen des unzureichenden Infektionserfolges wurde der Rübenversuch mit Erbsensaatgut wiederholt, wobei der Bonner Boden unbehandelt einbezogen wurde. Um festzustellen, ob *Phoma* unterschiedlich beeinflußt wird, wurde entsprechend verseuchtes Saatgut IV in nicht sterilisiertem Boden ausgelegt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 8 zusammengestellt.

Tabelle 8

Pathogenität von *Pythium* an Rübe und Erbse in Kompost- und Ackererde, Endbestand $\bar{x}$

Saatgut: Rübe III, $N = 4$; Markerbse Kelvedon, $N = 3$

		steril.		steril. + *Pyth.*		nicht steril.		
		Komp.	Orr	Komp.	Orr	Komp.	Orr	Bonn
Rüben								
1. Versuch	$\bar{x}$	53	55 -	11,5	12	34	40	—
2. Versuch	$\bar{x}$	68	65,5	31	42**	62	68	64
	$\bar{x}$ ..	60,5	60	21	27°	48	54°	
Erbsen								
1. Versuch	$\bar{x}$	35	36	0	0	0	14	2
2. Versuch	$\bar{x}$	39	37	0	0	0	9	1
	$\bar{x}$ ..	37,5	36,5	0	0	0	11,5**	1,5

Die Übereinstimmung zwischen sterilisiertem Kompost und Ackerboden zeigt, daß das Wachstum der Rüben- und Erbsenkeimlinge durch die beiden Bodenarten nicht beeinflußt wurde. In nicht sterilisiertem Boden bestand bei Rüben zwischen Kompost und Ackererde kein signifikanter Unterschied. Die Tendenz einer geringeren Aggressivität zeichnete sich in Ackererde ab, die durch die Signifikanz in beiden Erbsenversuchen ($\bar{x}\,.\,. = 0 < 11{,}5^{**}$) erhärtet wurde. In der Bonner Ackererde war sie ebenso groß wie in der Komposterde. Die Frage, ob ein unmittelbar unterschiedlicher Einfluß der Bodenarten auf *Pythium* nach Ausscheiden der thermolabilen Hemmstoffe im Sinne von LIKAIS (1948) besteht, ließ sich nur durch eine künstliche Verseuchung der sterilisierten Böden mit *Pythium* beantworten. Im ersten Rübenversuch wurden im Kompost ebenso viele Keimlinge infiziert wie im Ackerboden; im zweiten blieben im Ackerboden signifikant mehr Pflanzen gesund, was einer schwächeren Aggressivität durch thermostabile, mittelbar an den Boden gebundene Hemmstoffe, von denen nach LIKAIS der kolloidreiche, sandige Lehm mehr enthält als der anlehmige Sand, nur dann beeinflußt, wenn die Aggressivität des Pilzes von vornherein nicht groß und die Wirtspflanze wenig anfällig für ihn ist. Da zwischen nicht sterilisierter Komposterde und Ackererde Unterschiede im Befall bestanden, die zwischen sterilisierten, künstlich *Pythium*-verseuchten Böden nur im zweiten Rübenversuch festzustellen waren, müssen diese weniger auf unmittelbar an den Boden gebundene Hemmstoffe als auf biotische Faktoren zurückgehen.

Da die Ergebnisse des *Phoma*-Versuchs keine Beeinflussung der Aggressivität durch den Boden erkennen ließen, ist auf die Wiedergabe der Zahlenwerte verzichtet worden.

b) auf oberirdische Infektionen

Da Pflanzen mit ausgewachsenen Kotyledonen, die während 45 Tagen Temperaturen zwischen 20 ° und — 2 °C ausgesetzt waren, in *Pythium*-haltigem Boden nicht infiziert wurden, tauchte der Gedanke auf, ob solche Pflanzen völlig oder teilweise resistent seien, indem nur sehr junges Gewebe etwa an Faserwurzeln und Vegetationskegel den Infektionen zugängig ist.

Zur Klärung dieser Frage wurde auf den Vegetationskegel zwischen die sich eben entwickelnden ersten Laubblätter von 21 Tage alten, in sterilisiertem Boden angezogenen Rübenpflänzchen je ein mit *Pythium* II bewachsenes Agarstückchen (4 mm ⌀, 1,5 mm stark) gelegt. Über die Hälfte der je 32 beimpften und nicht beimpften Pflänzchen wurde ein 25-ccm-Becherglas gestülpt, um ein Eintrocknen des Inokulums zu vermeiden. Alle wurden in einer Klimakammer bei 18 °C, 82 % rel. Luftfeuchtigkeit und 16stündiger Belichtung mit 800 bis 1000 Lux gehalten.

Während die Pflanzen ohne Glashaube gesund blieben, starben 63 % der infizierten Pflanzen unter der Glashaube ab, ein Beweis, daß aufgelaufene, drei Wochen alte Pflanzen nicht resistent sein können.

Der Versuch wurde mit je 16 Pflanzen bei 5 °, 12 °, 15 °, 18 ° und 25 °C unter sonst gleichen Bedingungen wiederholt. Bei einem Parallelversuch in sterilisierter und künstlich mit *Pythium* verseuchter Erde ohne Inokulum

auf dem Vegetationskegel konnten etwaige Infektionen nur vom Boden ausgehen. Zu solchen kam es in keinem Fall. Von den oberirdisch infizierten Pflanzen erkrankten bei 5 ° bis 12 ° keine, bei 15 ° 50 %, bei 18 ° 75 %, bei 25 °C 100 %.

Um eine möglicherweise unter den Bechergläsern entstandene ungünstige Luftveränderung auszuschalten, wurde ein weiterer Versuch bei durchschnittlich 25 °C und 100 % rel. Luftfeuchtigkeit in einem 1,2 cbm großen Glaskasten mit normaler Luftzusammensetzung unter Zutritt von Tageslicht angesetzt. Es wurden auch hier über mehrere Pflanzen Bechergläser gesetzt. Zur Variierung der Lichtverhältnisse wurde die eine Hälfte des Kastens mit schwarzen und darüber mit weißen Tüchern abgedeckt, so daß bei Sonneneinstrahlung 900 Lux, entsprechend den Helligkeitswerten in der Klimakammer, und eine Höchsttemperatur von 35 °C nicht überschritten wurden. Während der ersten Versuchsdurchführung herrschten Sonnentage; Lichtstrahlen von durchschnittlich 20 000 Lux trafen die Pflanzen. Während der Wiederholung waren es nur 13 000 Lux bei bedecktem Himmel.

Sämtliche 63 nicht inokulierten Kontrollpflanzen blieben gesund. Die unter den Bechergläsern stehenden 36 Pflanzen erkrankten wiederum signifikant zahlreicher (100 %) als die nicht abgedeckten 126 (= 69 %, $P < 0{,}001$). Da sowohl unter den Bechergläsern als auch im großen Luftraum des Glaskastens die Luftfeuchtigkeit 100 % betrug, kann der unterschiedliche Infektionserfolg nur auf eine Änderung der Luftzusammensetzung zurückzuführen sein, die vermutlich in einer Verschiebung des O_2/CO_2-Verhältnisses zu suchen ist. Von den Pflanzen ohne Glashaube erkrankten durchschnittlich bei 900 Lux 98 %, bei 13 000 Lux 65 %, bei 20 000 Lux 27 %.

Eine erfolgreiche oberirdische Infektion drei Wochen alter Rübenpflänzchen erfordert demnach eine Temperatur von mindestens 15 °C, 100 % rel. Luftfeuchtigkeit, Lichtmengen unter 13 000 Lux oder bei höheren Lichtintensitäten abnorme Luftverhältnisse.

3. Einfluß biotischer Faktoren

Die starken Schwankungen im *Pythium*-Befall trotz gleicher Versuchsbedingungen und Verwendung desselben Saatgutes legten den Gedanken biotischer Einflüsse nahe, wie sie insbesondere im Edaphon gegeben sind. Über Beziehungen zwischen der Mikroflora und verschiedenen pathogenen Pilzen liegen zahlreiche Hinweise vor (Garret 1956, Winter 1944, Jaarsveld 1944, Sanford 1946, Likais 1948, Vasudava und Govindaswamy 1953, Wright 1954, Mach 1956, Garret 1956, Park 1957 und Braun und Nienhaus 1959).

a) auf *Pythium*- und *Phoma*-Befall

Das Ausmaß der von der Mikroflora ausgehenden Hemmung auf *Pythium* lassen folgene Versuche erkennen.

In vier Versuchsreihen wurde der Pflanzenendbestand in sterilisiertem Boden, dem *Pythium* I zugesetzt war, in natürlichem *Pythium*-haltigen Boden und in letzterem unter Zusatz von *Pythium* I festgestellt. Jede Versuchs-

reihe wurde in vier Wiederholungen durchgeführt. Tabelle 9 zeigt die Summen der gesund gebliebenen Pflanzen der vier Versuche:

Tabelle 9

Summen des Pflanzenendbestandes nach Infektion mit *Pythium* in sterilisiertem und natürlichem Boden
χ^2-Analyse nach $H_0 = 1 : 1$ (natürl. : nat. + *Py*)

Versuchsdatum	*N*	ster. + *Py*	natürl.	nat. + *Py*	Erwart.	*n*	χ^2
27. 6. 1957	4	38	208	165	186,5	1	4,957(*)
14. 10. 1957	4	59	114	78	96,0	1	6,750**
3. 12. 1957	4	46	137	130	133,5	1	0,183°
24. 2. 1958	4	101	249	215	232,0	1	2,491°

Das im sterilisierten Boden hoch aggressive *Pythium* erhöhte im natürlichen Boden den Infektionserfolg in vier Versuchen unterschiedlich. Hieraus kann umgekehrt auf die unterschiedliche Hemmwirkung der Mikroflora auf *Pythium* geschlossen werden. Zu allen vier Versuchen wurden Kulturen verwendet, die zwei Jahre auf Biomalznährböden kultiviert worden waren. Dies wirkte sich im letzten Versuch auf ein Nachlassen der Aggressivität aus.

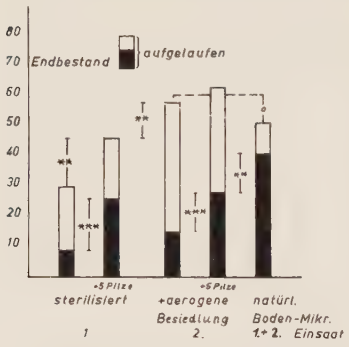


Abb. 5. Ordinate: aufgelaufene und nicht abgetötete Pflanzen, Abszisse: künstlich *Pythium*-verseuchte Erde mit unterschiedlich zusammengesetzter Mikroflora. Saatgut III. $\bar{x}$ von $N = 4$

Zur weiteren Analyse wurde ein Modellversuch durchgeführt, der in Abbildung 5 veranschaulicht ist.

In sterilisiertem, *Pythium*-verseuchtem Boden (1. Säule) wurden 5 Pilze sowohl einzeln (1. Säule) als auch gemeinsam hinzugegeben (2. Säule). Nach Feststellung des *Pythium*-Befalls wurde in die sterilisierten, *Pythium*-verseuchten Schalen und die mit 5 Pilzen gemeinsam verseuchten Schalen erneut Saatgut III eingelegt (3. und 4. Säule). Parallel wurde der Befall in natürlicher, *Pythium*-haltiger Erde festgestellt (5. Säule). Von 16 Pilzen wirkten vier *Penicillium*-Arten und *Aspergillus niger* im Plattentest (Biomalzagar) auf *Pythium* I antagonistisch. Im sterilisierten, *Pythium*-verseuchten Boden blieb jeder von ihnen allein ohne Einfluß auf Aggressivität und Infektionserfolg (1. Säule); gemeinsam riefen sie eine, wenn auch nur schwache Depression hervor, die sich in einem erhöhten Endbestand auswirkte (2. Säule). Von der zweiten Einsaat lief eine größere Anzahl Keimlinge auf, der Endbestand blieb derselbe (3. und 4. Säule). Eine vierwöchige, aerogene Besiedlung mit Mikroorganismen verlängerte demnach die Infektionszeit, während der Infektionserfolg derselbe blieb. Dieser nahm erst bei antagonistischer Wirkung einer natürlichen Bodenmikroflora ab.

Das wirft die Frage auf, ob die Infektionen allgemein v o r dem Auflauf erfolgen und die Inkubationszeit verlängert ist, oder ob sie bei kon-

stanter Inkubationszeit auch noch später eintreten können. Tabelle 10 zeigt, daß in zweieinhalbjährigen Versuchen die weitaus überwiegende Anzahl Pflanzen v o r dem Auflaufen durch beide Erreger abgetötet wurden.

Tabelle 10

Anteil der abgetöteten Pflanzen vor und nach dem Auflaufen
Erwartungswerte: Saatgut I = 82, III = 76, IV = 85

Erreger	Saatgut	*N*	Abgetötet vor und nach v. H. d. Erw.	Abgetötet vor v. H.	$\bar{x}$% vor
		Boden sterilisiert			
Phoma	I	6	90	48	
	III	20	39	46	73
	IV	20	73	97	
Pythium	I	16	95	94	
	III	24	85	69	70
	IV	16	86	48	
Phoma + *Pythium* .	III	12	93	90	
	IV	4	95	93	91
		Boden natürlich			
Pythium	I	27	65	57	
	III	28	30	57	61
	IV	28	29	72	
Phoma + *Pythium* .	I	10	82	73	
	III	16	59	76	82
	IV	24	52	90	

Die Beeinflussung des *Phoma*-Befalls durch die Mikroflora kann nicht aus einem Vergleich gesunder bzw. abgetöteter Pflanzen in sterilisierter und natürlicher Erde erschlossen werden, da in letzterer zusätzliche *Pythium*-Infektionen das Ergebnis verfälschen können. Zwei methodisch verschiedene Wege führen zu klaren, übereinstimmenden Ergebnissen.

In je drei Schalen mit natürlicher und sterilisierter Erde wurden 80 Knäuel *Phoma*-verseuchten Saatgutes IV auf eine 0,5 cm starke Sandmarkierungsschicht gelegt. Am 7., 10. und 13. Tage nach der Einsaat wurden aus je einer Schale sämtliche Keimlinge herausgenommen und auf *Phoma*-Infektionen geprüft (Abb. 6).

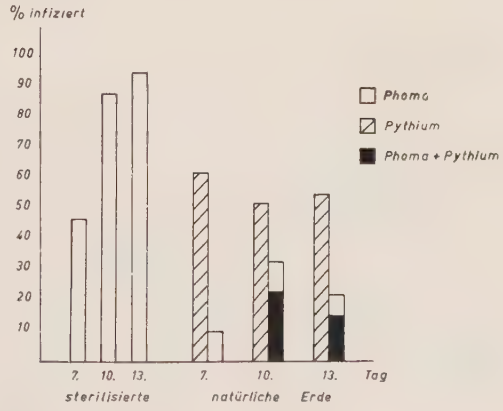


Abb. 6. Anteilmäßige Infektionen mit *Phoma* und *Pythium* bei vorhandener und fehlender Mikroflora. Ordinate: Prozent infizierte Keimlinge aus 80 Knäueln, Abszisse: Tage nach Einsaat

Während im sterilisierten Boden am 7. Tage 47 %, am 10. Tage 88 %, am 13. Tage 95 % der Keimlinge mit *Phoma* infiziert waren, lauteten im natürlichen Boden die entsprechenden Zahlen 10 %, 33 % und 22 %; zusätzlich waren hier am 10. Tage 23 %, am 13. Tage 15 % mit *Pythium* infiziert. Am größten war der Anteil reiner *Pythium*-Infektionen.

In vier Schalen mit sterilisierter Erde wurde Saatgut IV eingelegt. Nach Entfernung des vier Wochen alten Pflanzenendbestandes wurde eine erneute Einsaat vorgenommen, der eine dritte, vierte und fünfte Einsaat innerhalb von fünf Monaten folgte, während der Boden einer aerogenen Besiedlung mit Mikroorganismen ausgesetzt war. Bis zum Auflaufen standen die Schalen bei 12 °C in einer Klimakammer, anschließend in einer offenen Gewächshaushalle. Schon nach einem Monat siedelten sich in zunehmendem Maße Pilze (Methode nach GUILLEMAT 1956) und Bakterien (soil-plate Methode nach WARCUP [CHESTERS 1956]) an. Der Endbestand von nur 20 Pflanzen der ersten und 19 Pflanzen der zweiten Einsaat (Abb. 8 S. 181) beweist die hohe Aggressivität von *Phoma*. Sie nahm laufend ab. Wurde die Erde nach der fünften Einsaat erneut sterilisiert und gleiches Saatgut erneut ausgelegt, so blieben wiederum nur 15 Pflanzen gesund (Abb. 8 K). Der Rückgang der Aggressivität kann nur als Folge der zunehmend sich ansiedelnden Mikroflora gedeutet werden, die durch die Sterilisation wiederholt ausgeschaltet wurde, so daß nicht nur die bodenbürtigen, sondern auch die samenbürtigen Erreger durch sie beeinflußt werden.

b) Einfluß von *Phoma* auf *Pythium*

In vitro auf Biomalzagar zeigten *Pythium* und *Phoma* untereinander weder eine antagonistische noch eine synergistische Wirkung. Bei kombinierter Verseuchung starben mehr Pflänzchen ab als nur bei einseitiger. Das legte die Frage nahe, wie hoch der Anteil beider Partner in sterilisiertem Boden bei Ausschluß sonstiger Mikroflora ist.

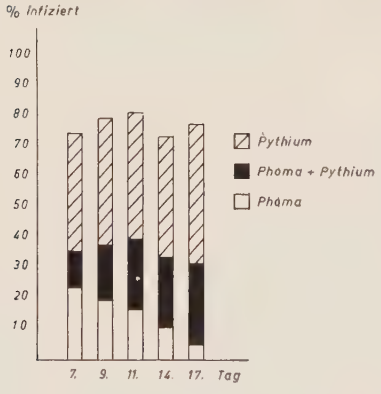


Abb. 7. Zunahme der Mischinfektionen. Ordinate: Prozent infizierte Keimlinge aus 80 Knäueln, Abszisse: Tage nach Einsaat

Zu ihrer Beantwortung wurden Keimlinge aus sterilisiertem, *Pythium*-haltigem Boden des Saatgutes IV am 7., 9., 11., 14. und 17. Tage nach der Einsaat untersucht. Das Ergebnis zeigt Abbildung 7.

Der Anteil der reinen *Phoma*-Infektionen nimmt vom 7. bis 17. Tage ab, der der Mischinfektionen entsprechend zu. Daraus darf geschlossen werden, daß Keimlinge, die durch eine Infektion durch *Phoma* geschwächt waren, für *Pythium*-Infektionen zunehmend anfällig wurden. Die Anzahl der vom 7. bis 17. Tage nach der Einsaat infizierten Keimlinge war stets die gleiche, sie erhöhte sich auch nach dem Auflaufen, vom 11. Tage an, nicht. Alle Infektionen waren demnach vor dem Auflaufen erfolgt.

c) Wirkung der Beizung in Abhängigkeit vom Erreger

aa) von *Phoma*

Frohberger (1956, Tab. 13) hat über gute Wirkung der COBH-Beizung auf samenbürtige Erreger berichtet. In meinen Prüfungen von COBH und Hg war COBH unzureichend wirksam. Daran änderte auch die doppelte Aufwandmenge (6 mg/g) nichts. Dieser Mißerfolg ließ drei Deutungen zu.

Einmal wären *Phoma*-Herkünfte mit unterschiedlicher Empfindlichkeit gegen COBH denkbar. Dagegen spricht der früher erörterte Versuch mit drei Saatgutherkünften, deren Beizungen einheitlich nur zu einem sehr wenig erhöhten Bestand nicht infizierter Pflanzen von durchschnittlich 12 % des Erwartungswertes führten (Tab. 5). Weder Herkunft noch Pathogenität von *Phoma* ließen zur COBH-Wirkung eine Beziehung erkennen.

Zum anderen besitzt nach Frohberger (1956) COBH eine sehr geringe Wirkung auf *Phoma* und *Pythium* in vitro. Diese tritt erst in Verbindung mit quellenden und keimenden Samen ein. Demnach wäre vorstellbar, daß die natürliche Mikroflora des Bodens für die Aktivierung von COBH während der Aufnahme durch den Samen erforderlich ist. Positive Beizversuche mit Erbsen in frisch sterilisiertem Boden mit hochaggressivem *Pythium* schließen diese Möglichkeit aus.

Endlich könnte die Wirksamkeit lediglich von der Infektionszeit abhängen, die als Ausdruck der Aggressivität anzusehen wäre. Nur bei ihrer hinreichend langen Dauer könnte COBH rechtzeitig *Phoma*-Infektionen ausschalten. Da allein Bodenmikroorganismen in der Lage waren, die Aggressivität zu mindern, mußte die Wirkung von COBH gegen *Phoma* innerhalb einer natürlichen Mikroflora, aber unter Ausschluß von *Pythium*, geprüft werden. Diese Prüfung erfolgte auf zwei Wegen.

Neben ungebeizten und Brom-behandelten wurden je vier Schalen mit COBH- und Hg-gebeizten Knäueln des *Phoma*-verseuchten Saatgutes IV im

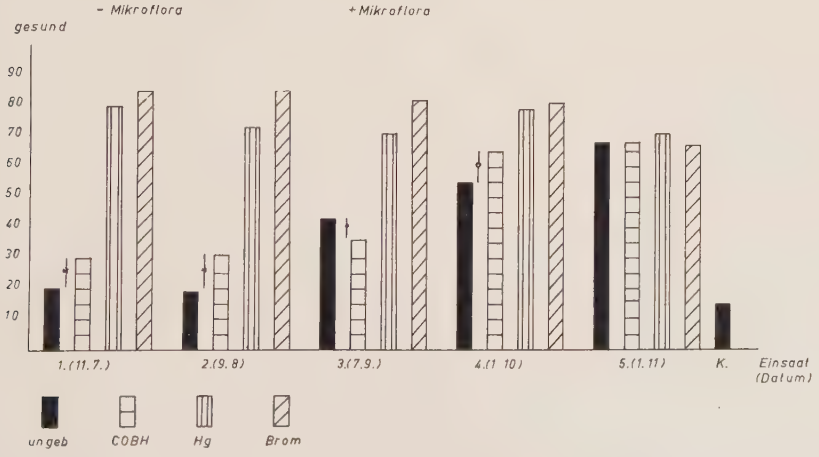


Abb. 8. Einfluß aerogener Besiedlung von Mikroorganismen auf *Phoma*-Pathogenität und Wirkung von COBH und Hg. Ordinate: $\bar{x}$ des Endbestandes, $N = 4$, Abszisse: Einsaattermin und Saatgut IV-Behandlung

Abstand von vier Wochen jeweils nach Entfernung des vorangegangenen Bestandes fünfmal ausgesät. Wie Abbildung 8 zeigt, nahm die Zahl der Pflänzchen aus COBH-gebeizten Knäueln von der zweiten bis zur fünften Einsaat parallel den ungebeizten zu.

Die nur geringe Differenz von durchschnittlich acht Pflänzchen zwischen ungebeizt und COBH ließ sich im t-Test nicht bzw. nur schwach sichern. Hg hingegen zeigte eine weitaus höhere Wirkung, die der mit Brom behandelten Kontrolle entsprach.

Innerhalb einer natürlichen Bodenmikroflora konnte *Pythium* durch das Präparat E 22555[1]) selektiv ohne Beeinträchtigung von *Phoma* und der sie hemmenden Mikroorganismen ausgeschaltet werden. In den natürlichen mit 100 mg E 22555 je Liter Erde behandelten Boden wurden nach zwei Tagen ungebeizte, COBH-, Hg- und Brom-gebeizte Knäuel des *Phoma*-verseuchten Saatgutes IV eingelegt. Zur Kontrolle wurden Brom-behandelte (Erwartungswert) und ungebeizte (*Phoma*-Befall) Knäuel in sterilisierte, präparativ behandelte Erde und in natürliche, nicht behandelte Erde Brom-gebeizte (*Pythium*-Verseuchung) Knäuel eingelegt. Das Ergebnis ist in Abbildung 9 zusammengestellt.

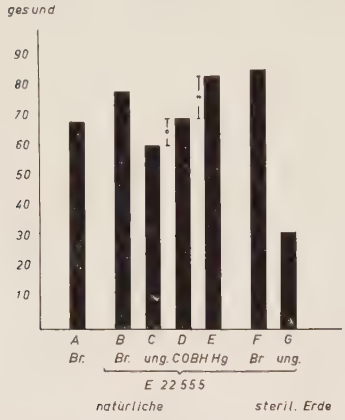


Abb. 9. COBH- und Hg-Wirkung auf *Phoma* in natürlicher, *Pythium*-freier Erde. Ordinate: $\bar{x}$ des Endbestandes, $N = 4$. Abszisse: Bodenbehandlung und Saatgut IV-Behandlung

Der Vergleich mit den Brom-Kontrollen zeigt, daß die geringen *Pythium*-Infektionen durch E 22555 gänzlich ausgeschaltet worden sind (B). Die Infektionen im ungebeizten Versuchsglied (C) könnten demnach nur durch *Phoma* erfolgt sein. Die viel größere Anzahl gesunder Pflänzchen im Vergleich zum sterilisierten Boden (G) drückt die durch die Mikroflora verminderte Aggressivität von *Phoma* aus. COBH (D) erhöhte den Endbestand von 61 auf 70 (D bis C). Hg fiel wiederum durch seine höhere Wirkung auf. Demnach war auch in diesem Fall die Wirkung von COBH unzureichend.

Bei Zusammenfassung aller COBH-Beizversuche gegen *Phoma* im Gewächshause wurden im Mittel nur 10,4 % Pflänzchen des Durchschnittserwartungswertes (80) vor Befall geschützt. Eine übereinstimmende Wirkung von COBH und Hg, wenn reichlich mit *Phoma* behaftetes Saatgut in natürliche *Pythium*-haltige Erde ausgesät wurde, ist zunächst überraschend.

Der Analysierung der $\bar{x}$ . . ist jedoch zu entnehmen, daß in natürlichem Boden der Anteil der *Phoma*-Infektionen zugunsten der *Pythium*-Infektionen abnahm. Im sterilisierten Boden erkrankten von 83 zu erwartenden Pflänzchen 63 (a minus b) durch *Phoma*. COBH setzte ihre Zahl auf 52, Hg auf 6 herab. Im natürlichen, *Pythium*-haltigen Boden starben nach Brom-Be-

[1]) Lösung von Dimethylaminophenyldiazosulfosaurem Natrium der Farbenfabriken Bayer.

Tabelle 11

$\bar{x}$ des Endbestandes aus vier Beizversuchen mit *Phoma* in sterilisierter und natürlicher *pythium*haltiger Erde

Saatgut IV, $N = 4$

Boden	Beizung	Einsaat				$\bar{x}$ ..
		1957			1958	
		11. 7.	20. 9.	28. 10.	8. 4.	
sterilisiert	a Kontrolle	83	85	82	81	83
	b Ungebeizt	19	23	17	22	20
	c COBH	31	35	27	—	31
	d Hg	73	—	80	79	77
natürlich	e Brom	—	52	60	52	55
	f Ungebeizt	32	36	41	53	40
	g COBH	64	63	71	69	67
	h Hg	51	57	57	63	57

handlung 28 (a minus e), ohne Beizung 43 (a minus f) ab. Da im ersteren Falle nur *Pythium*, im letzteren *Pythium* und *Phoma* zur Auswirkung gelangten, muß die Differenz von 15 Erkrankungen auf *Phoma* zurückgeführt werden. Dieser geringe Anteil der *Phoma*-Infektionen erklärt sich aus dem Antagonismus der Mikroflora. Nach COBH-Beizung starben 16 (a minus g) Pflänzchen ab. Die Differenz von 27 gegenüber ungebeizt entsprach den Pflänzchen, die nach Brom-Behandlung durch *Pythium* abgestorben waren. Die 16 müssen also durch *Phoma* abgetötet sein, volle Ausschaltung von *Pythium* vorausgesetzt. Nach Hg-Behandlung starben annähernd soviele Keimlinge ab, wie *Pythium*-Infektionen nach Brom-Behandlung (h minus e) auftraten.

bb) von *Pythium*

Die zur Klärung des *Pythium*-Einflusses auf die Beizwirkung durchgeführten Versuche gehen aus Tabelle 12 hervor.

COBH und Hg blieben einem hochaggressiven *Pythium* in sterilisiertem Boden gegenüber wirkungslos (Tab. 12,1). Statistisch war die Beizwirkung auch dann nicht zu sichern, wenn tiefe Temperaturen die Aggressivität minderten (S. 172). Riefen jedoch Mikroorganismen natürlicher Erde den Aggressivitätsverlust hervor, so waren COBH und Hg gleich wirksam (Tab. 12, 2). In einem dritten Versuch war die Aggressivität größer: der Endbestand ging von 56 Pflänzchen auf 29 zurück (Tab. 12, 3). Trotz dieser größeren Aggressivität blieb der Beizerfolg vor COBH derselbe.

In einem zusätzlich mit *Pythium* verseuchten natürlichen Boden war einmal COBH in der Wirkung Hg überlegen (Versuch 4), in zwei weiteren Versuchen waren beide gleich wirksam.

Da COBH und Hg auch bei geringer Aggressivität schwankende Wirkung zeigten, konnte die Aggressivität nicht allein ausschlaggebend für die Wirkung sein. Dafür sprach auch die gute und sichere, dem Hg überlegene

Tabelle 12

Beizwirkung von COBH und Hg auf *Pythium* (A) unterschiedlicher Aggressivität, (B) nach zusätzlicher Verseuchung

A: Saatgut I, B: Saatgut III. $\bar{x}$ des Endbestandes. 1) Kontrolle: nicht zusätzlich verseucht

Boden-Aggressivität		*N*	Brom a		Brom + COBH b	Brom + Hg c	D
A							
sterilisiert	1. groß	11		9	16	18	c — a = o
natürlich	2. gering	4		56	78	81	b — a = **
	3. mittel	5		29	74	63	b — c = o
B			1)				
natürlich	4. mittel	4	57*	39	91	70	b — c = *
	5. mittel	4	62°	54	64	67	b — a = *
	6. mittel	4	62°	54	67	64	b — a = o

Wirkung bei Erbsen, wie sie in sämtlichen Versuchen mit hoher und geringer *Pythium*-Aggressivität festgestellt wurde.

d) Wirkung der Beizung in Abhängigkeit vom Wirt

Die unterschiedliche Wirkung von COBH bei Rübe und Erbse kann zwei Ursachen haben, die mit der Aufnahme von COBH und mit der Entwicklung des Wirtes zusammenhängen. Einmal dauert das anfällige Entwicklungsstadium der Erbse, das in FROHBERGERS Versuchen drei bis fünf Tage betrug, kürzer als das der Rübe. Es kann bei der Erbse durchlaufen sein, bevor die intraplantäre COBH-Wirkung abgeklungen ist, während es bei der Rübe die COBH-Wirkung überdauern kann. Zum anderen kann die vom Erbsensamen abweichende Anatomie und Physiologie des Rübenknäuels und -samens das Eindringen von COBH beeinflussen.

Zur Klärung dieser beiden Möglichkeiten wurden zunächst Knäuel von Brom-, Brom + COBH- und Brom + Hg-gebeiztem Saatgut III sowie ungebeizte Erbsen auf eine dünne Sandmarkierungsschicht in sterilisierter Erde ausgelegt. Die Schalen wurden bei 12 °C aufgestellt. Am 2. bis 11. Tage nach der Einsaat wurden die Rüben- und Erbsenkeimlinge vorsichtig aus der *Pythium*-freien Erde gehoben. Jeweils wurden 100 Erbsen und 150 Knäuel bzw. Keimlinge, die sich vom Knäuel gelöst hatten, in drei Schalen mit sterilisierter, *Pythium* I- (1. Versuch) bzw. *Pythium* II- (2. Versuch) verseuchter Erde umgepflanzt. Die Brom-behandelten Kontrollen wurden in sterilisierte, *Pythium*-freie Erde übertragen. Auf diese Weise konnte der zeitliche Beginn der Infektionsmöglichkeit genau verfolgt werden. Weiterhin wurde die Anfälligkeit der Rübenkeimlinge am 10. und 13. Tage in zwei Wiederholungen geprüft. In je 16 Schalen mit sterilisierter Erde wurden 21 Brom-

behandelte Knäuel des Saatgutes VII auf 3,5 × 7 cm eingelegt. Ein 4 cm langes Holzstäbchen von 4 mm Durchmesser wurde 2 mm entfernt von jedem Knäuel 3 cm tief in die Erde gesteckt. Am 1., 10. und 13. Tage nach der Einsaat wurde nach Herausziehen des Stäbchens in jedes Loch ein mit *Pythium* II bewachsenes Reiskorn eingebracht. Die Stäbchen der *Pythium*-freien Kontrolle, die nicht infizierte Reiskörner enthielt, wurden am 13. Tage entfernt. Das Ergebnis zeigt Tabelle 13.

Tabelle 13

Dauer des anfälligen Entwicklungsstadiums der Rübe und Erbse und Beizwirkung bei Rübe

$\bar{x}$ des Endbestandes v. H. der Kontrollen.

Rübe: $N = 3$, Erbse: $N = 2$, Versuch 3: $N = 8$, $i = 21$

	Umgepflanzt nach Tagen								
	2	3	4	5	6	8	10	11	13
	Länge in mm								
Erbse (Wurzel)	0	0	4	7	14	25	—	40	—
Rübe	0	0	2	4	6	16	30	35	40
	1. Versuch								
Erbsen Ungebeizt	14	—	—	93	96	95	—	100	-
Rüben Brom	60	—	48	68	66	87	—	88	—
Brom + COBH	80	—	86	85	91	89	—	96	—
Brom + Hg	69	—	78	75	76	92	—	99	—
	2. Versuch								
Erbsen Ungebeizt	0	0	67	78	82	97	—	—	—
Rüben Brom	8	—	—	—	29	37	—	—	—
Brom + COBH	—	—	—	—	81		—	—	—
Brom + Hg	—	—	—	—	37	—	—	—	—
	3. Versuch								
Rüben Brom	13	—	—	—	—	—	24	—	17

Signifikanzgrenze für P = 0,05: Erbse etwa 81 %, Rübe etwa 86 %.

Ein Vergleich der Brom-behandelten Rüben läßt eindeutig eine geringere Aggressivität von *Pythium* im ersten gegenüber dem zweiten und dritten Versuch erkennen. Das Ergebnis des dritten Versuchs ist insofern bemerkenswert, als die Rübenpflänzchen bereits ihre Kotyledonen entfaltet hatten und trotzdem für *Pythium* noch anfällig waren, weil die Kultivierung auf Reis seine Aggressivität erhöht hatte (Gäumann 1951, S. 298; Mukherji 1957). Bei Erbsen gingen die Infektionen dagegen schon am 4. Tage auf 33 % zurück. Am 5. Tage wurden sie im Mittel nicht mehr infiziert (85,5 %). Demnach war das anfällige Stadium der Erbse, trotz ihrer spezifisch höheren *Pythium*-Anfälligkeit, im Vergleich zur Rübe, zeitlich kürzer.

Hg schützte am 4. Tage die 2 mm langen Rübenkeimlinge vor Infektionen (78 %). Da anschließend, wie die Brom-gebeizten Knäuel zeigen,

einerseits die Anfälligkeit zurückging, andererseits einige mittelspäte Infektionen eintraten, konnte sowohl keine signifikante Wirkung gegenüber ungebeizt (Brom) als auch kein vollständiger Endbestand (Kontrolle) vorhanden sein. Waren Anfälligkeit und Aggressivität weiterhin groß (2. Versuch, 6. Tag), so blieb die Hg-Wirkung hinter der von COBH sehr zurück. Letzteres wirkte, sobald die Keimlinge durchschnittlich 2 bis 6 mm lang und damit der Zone entwachsen waren, die im Sinne FROHBERGERS größenordnungsmäßig mit dem Hg-Beizhof zusammenfällt.

Die in vielen Versuchen beobachtete unzureichende Wirkung von COBH mußte demnach in erster Linie Spätinfektionen betreffen. Zur Bestätigung dieser Annahme wurden bei 25 °C, 90 bis 100 % rel. Luftfeuchtigkeit und 17stündigem Tageslicht von 7000 bis 12 000 Lux je sechs Tonkästen mit je 16 ungebeizten und COBH-gebeizten Erbsensamen in natürlicher, *Pythium*-haltiger Erde und je 16 ungebeizte Erbsen in sterilisierter Erde als Kontrolle im Gewächshause aufgestellt. Am dritten Tage nach der Einsaat wurden zwei Schalen in eine Klimakammer bei gleicher Temperatur und Feuchtigkeit, jedoch 16stündigem Tageslicht von 800 bis 1000 Lux umgesetzt.

In den COBH-Kästen liefen durchschnittlich 10,6 Pflanzen vor der Umstellung auf. Sie blieben im Gewächshause gesund, wurden aber in der Klimakammer durch Lichtmangel erneut anfällig und erkrankten. Der Schutz von COBH reichte also zu diesem Zeitpunkt nicht mehr aus. Setzt man bei Erbse und Rübe die gleiche zeitliche Dauer der COBH-Wirkung voraus, so darf auf Grund des Erbsenversuchs gefolgert werden, daß ein 30 bis 35 mm langes Hypokotyl aus COBH-gebeizten Rübenknäueln vor *Pythium*-Infektionen nicht geschützt wird.

Zur Beantwortung der Frage, ob die COBH-Aufnahme bei Rüben anders als bei Erbsen verläuft, wurden ungebeizte Erbsen und Brom-behandelte Knäuel des Saatgutes III 24 und 48 Stunden bei Zimmertemperatur in eine gefilterte, gesättigte COBH-Wirkstoff-Suspension getaucht, unter fließendem Wasser von restlichen COBH-Teilchen befreit und in natürliche, *Pythium*-haltige Erde gelegt. Als Vergleich diente COBH-trockengebeiztes, als Kontrolle wasserbehandeltes Saatgut.

Naßbeize erbrachte bei Rüben im Mittel 86 %, bei Erbsen 67 % des Endbestandes nach Trockenbeize. Die höhere Aufnahme durch die Rübenknäuel, die aus dem höheren Endbestand erschlossen werden kann, war auf ihre größere Oberfläche und schwammige Struktur zurückzuführen.

Da COBH während der Quellung des Erbsensamens in unzureichender Menge aufgenommen worden war, fragt es sich, ob der Wirkstoff nach dem Quellen bei beginnender Keimung in genügender Menge eindringt. Je hundert Erbsen wurden entweder während oder nach der Quellung 24 Stunden in eine gefilterte, gesättigte COBH-Wirkstoff-Suspension getaucht und anschließend abgespült. Zwei weitere Partien wurden als Kontrollen vor und nach der Quellung trockengebeizt. Die bei Zimmertemperaturen angekeimten Samen mit einer mittleren Keimlänge von 1 mm wurden in *Pythium*-haltigen Boden eingelegt. Zu jedem Versuchsglied kam eine COBH-freie Kontrolle.

Vollwirksam wurde COBH nur, wenn es während der Keimung eindringen konnte, während der Quellungsvorgang selbst von untergeordneter Bedeutung war.

e) Versuche zur Hg-Wirksamkeit

In einem Beizversuch beobachtete ich 3 Tage nach Auflaufbeginn einen deutlich sichtbaren Wachstumsvorsprung sämtlicher Hg-gebeizten gegenüber den COBH- und Brom-gebeizten Pflänzchen in sterilisierter, *Pythium*-verseuchter Erde. Nach weiteren 20 Tagen wurde das oberirdische Gewicht von 50 Pflänzchen aus Hg- und COBH-gebeizten Knäueln festgestellt. Die durchschnittlichen Einzelpflanzengewichte sind in Tabelle 14 enthalten.

Tabelle 14
Durchschnittliches Einzelfrischgewicht oberirdischer Rübenpflanzen in mg
i = 50. Saatgut III

Boden	Tage nach Aufl.-Beg.	Temp. °C	Licht/h	COBH	Hg	$\frac{Hg}{COBH}$
sterilisiert + *Pythium*	23	14	8	28	46	1,69***
	23	14	15	133	232	
sterilisiert —	6	14	14	19	21	1,08°
	14	14	14	67	71	
natürlich + *Pythium*	6	14	14	13	20	1,54**
	14	14	14	56	74	1,32**

Das Gewicht der Hg-gebeizten war im Mittel 1,7mal größer als das der COBH-gebeizten. Gassner (1952) führt die auch von ihm beobachtete bessere Keimung nach Hg-Behandlung weniger auf eine Stimulation als auf eine Hemmung der Mikroflora mit einer Verbesserung der Sauerstoffversorgung der Keimlinge zurück. Zur weiteren Klärung wurden Brom-behandelte Knäuel mit Hg und COBH gebeizt und in sterilisiertem, *Pythium*-freiem und natürlichem, *Pythium*-haltigem Boden ausgelegt.

In sterilisiertem Boden förderte die Hg-Beizung das Wachstum gegenüber COBH-Beizung nicht, während in natürlichem Boden das Gewicht der 6 bzw. 14 Tage nach Auflaufbeginn geernteten Hg-Pflänzchen 1,5- bzw. 1,3mal größer war als das der COBH-Pflänzchen. Damit wird Gassners Vermutung unterstützt.

Die Ergebnisse aller Hg-Beizversuche mit *Phoma*-verseuchtem Saatgut in sterilisierter Erde sind in Tabelle 15 zusammengestellt.

An nur 4,6 % Knäueln blieb Hg auf *Phoma* wirkungslos, so daß 6 % der erwarteten Pflänzchen abstarben, gegenüber 4,2 % nach Brom-Behandlung. Hg und Brom wirken also gleich gut auf *Phoma*. Diese gute Wirkung von Hg zeigte sich auch in zahlreichen Versuchen in natürlichem Boden (Tab. 6

Tabelle 15

Hg- und Bromwirkung auf *Phoma* in sterilisierter Erde, bezogen auf 100 Knäuel. $i = 50$

Beizung	N	Gekeimte Knäuel	Aufgelaufene		Endbestand		v. H. tote Pflanzen
			Stellen	Pflanzen	Auflauf-Stellen	Pflanzen	
Hg	38	87	87	165,6	83	155,6	6,0
Brom	32	87	87	166,4	85	159,4	4,2

und 11, Abb. 8 und 9). Nur in drei Versuchen konnte *Phoma*-Myzel nach Hg-Beizung aus 12,8 % und *Pythium*-Myzel aus 77 % der 78 nach dem Auflaufen abgestorbenen Pflänzchen isoliert werden. Das ließ vermuten, daß Hg im natürlichen Boden weniger wirksam ist.

C. DISKUSSION

Die gefundenen Ergebnisse erlauben es, zur Frage der Rübenbeizung kritisch Stellung zu nehmen, wobei zunächst die Maßnahmen betrachtet werden, die zur Bekämpfung des Wurzelbrandes nicht unterlassen werden dürfen, bevor eine Beizung vorgenommen wird. Wie schon PETERS (1908) feststellte, ist jedes Rübensaatgut mehr oder weniger mit *Phoma* verseucht. Wenn auch die Mikroflora des Bodens und mehrjährige Lagerung des Saatgutes Aggressivität und Pathogenität des Pilzes herabsetzen, kommt es doch in vielen Fällen zu Infektionen. Die übliche Frühaussaat vermehrt die Gefahr infolge der durch tiefe Temperaturen erhöhten Pathogenität des Pilzes (Abb. 2).

Die samenbürtigen Erreger werden durch Beizung mit Hg und TMTD nahezu vollständig abgetötet. In nicht sterilisierter Erde im Gewächshaus und Feld konnte allerdings vereinzelt beobachtet werden, daß einige Pflanzen aus Hg-gebeizten Knäueln nach dem Auflaufen erkrankten. Von nicht ordnungsgemäßer Beizung abgesehen, gibt es für dieses Versagen zwei Erklärungsmöglichkeiten. Einmal kann Hg in natürlicher Erde von Humusbestandteilen adsorbiert werden (DOMSCH 1956), bevor die volle fungizide Wirksamkeit erreicht ist. Zum anderen wird das im Pericarp befindliche *Phoma*-Myzel vom Quecksilber nicht erfaßt, so daß es von hier aus den Embryo infizieren kann, ein Vorgang, der nach LINHART (1899), FOURMONT (1938), GREIS (1942) und eigenen Untersuchungen freilich selten eintritt.

Da die samenbürtigen Erreger durch Beizung hinreichend sicher ausgeschaltet werden können, konzentriert sich das Interesse auf Bedeutung und Bekämpfung der bodenbürtigen Erreger. Dreijährige Freilandversuche, Beobachtungen auf teilweise nicht optimalen Rübenböden und Umfragen bei linksrheinischen Rübenanbauern ergaben nur geringes Vorkommen bodenbürtiger Wurzelbrand-Erkrankungen. Daraus könnte gefolgert werden, daß bodenbürtige Wurzelbrand-Erreger hinter samenbürtigen allgemein zurücktreten.

Gegen das von Küster (1927) angegebene Zahlenverhältnis von 7 : 4 : 2 für *Phoma-*, *Pythium-* und *Aphanomyces*-Infektionen müssen Bedenken erhoben werden. Es berücksichtigt die v o r dem Auflaufen tödlichen Infektionen nicht. Dazu kommt, daß das von Busse, Peters und Ulrich (1908) untersuchte Krankheitsmaterial vorwiegend aus Ost- und Mitteldeutschland stammte. Diese Autoren ließen zudem das Verhältnis erkrankter zu gesunden Pflanzen unberücksichtigt. Schließlich haben sie innerhalb ihrer dreijährigen Untersuchungen festgestellt, daß der Anteil der Erreger in Abhängigkeit von Boden, Witterung und Saatgut-Verseuchung sehr variabel ist. Es wäre demnach verfehlt, hieraus eine gleich hohe Bedeutung der samenbürtigen und bodenbürtigen Erreger in west- und süddeutschen Anbaugebieten abzuleiten.

Eine Gegenüberstellung der gesamten Rübenanbaufläche der Bundesrepublik (1951: 218 978 ha [Lüdecke 1953]) mit den in den letzten Jahren umgebrochenen Rübenschlägen[1]) beweist die geringe Bedeutung bodenbürtiger Erreger. Auf den „geborenen" Rübenböden ist der bodenbürtige Wurzelbrand eine unbekannte Erscheinung. Selbst auf den nach Busse, Peters und Ulrich für ihn prädestinierten Böden wurden selten mehr als 2 % der Rübenanbaufläche umgebrochen. In diesen Prozentsatz sind möglicherweise Rübenschläge einbezogen, die von *Phoma* befallen wurden, weil eine Beizung unterlassen oder unzureichend durchgeführt war.

Trotz der unter günstigen Standortbedingungen geringen Bedeutung bodenbürtiger Erreger sind hygienische Maßnahmen unerläßlich zur schnellen Überwindung des anfälligen Jugendstadiums und zur Herabsetzung der Bodenverseuchung durch *Pythium* und seiner Aggressivität.

Die h y g i e n i s c h e n M a ß n a h m e n waren bisher vornehmlich auf die Beeinflussung des Wirtes durch Erhaltung und Verbesserung der Bodenstruktur, neutrale Bodenreaktion, ausreichende Nährstoffversorgung, Saatzeit und Saattiefe ausgerichtet.

Die Bedeutung des Saatgutes ist demgegenüber vernachlässigt worden. Ergebnisse von Bockstahler und Hogaboam (1950), Downie, Schuster und Oldemeyer (1954) und meine eigenen haben gezeigt, daß Sorten und Herkünfte sich in ihrer Anfälligkeit unterscheiden. Deshalb erscheint die Züchtung resistenter Sorten nicht unmöglich. Schwierigkeiten können aus der Plurivorie von *Pythium* (Matthews 1931) und aus der Notwendigkeit erwachsen, zur Resistenzprüfung ein *Pythium* mit einer „standardisierten" Aggressivität zu verwenden.

Die experimentell festgestellte Herabsetzung der *Pythium*-Infektionen durch tiefe Temperaturen steht im Widerspruch zu der allgemeinen Auffassung (Esmarch 1942), daß tiefe Temperaturen das Auflaufen verzögern und damit die Infektionsgefahr erhöhen. Letzteres erklärt sich daraus, daß im Freiland erfahrungsgemäß mit langsamem Auflauf Verschlämmung und Verkrustung des Bodens einhergehen. Wenn dann die Bodentemperatur ansteigt, nimmt die Aggressivität von *Pythium* zu, während die mechanische

[1]) Rundfrage des Institutes für Pflanzenkrankheiten Bonn bei acht Pflanzenschutzämtern.

Behinderung den Keimling das anfällige Stadium nur langsam überwinden läßt.

Frühzeitige Aussaat ist deshalb nur ratsam, wenn lockere Bodenstruktur gewährleistet und gegen samenbürtige Erreger gebeizt worden ist, weil bei tiefen Temperaturen *Phoma* signifikant mehr Keimlinge abtötete als bei 12 °C.

Da bei 5 °C die Wachstumsgeschwindigkeit von *Pythium* gleich der von *Phoma,* die Aggressivität aber geringer ist, muß die kritische Temperatur für *Pythium* höher liegen als für *Phoma.* Aus dem langsameren Wachstum bei 5 °C darf nicht gefolgert werden, der Pilz erreiche den Wirt nicht. Vielmehr spricht der „Ausbreitungsversuch" für eine Abnahme der Fähigkeit, in den Wirt einzudringen, die, wie HAWKINS und HARVEY (1920) vermuten, nicht nur rein chemisch, sondern auch mechanisch begründet ist.

Meine Versuche haben gezeigt, daß tödliche Infektionen nur v o r dem Auflaufen stattfinden. Im Widerspruch dazu stehen Beobachtungen der Praxis, daß Pflanzen mit 2 bis 4 Laubblättern nach Regengüssen, verbunden mit Temperaturstürzen und Bodenverschlämmung plötzlich erkranken und absterben. 95 bis 100 % Bodenfeuchtigkeit, Sauerstoffmangel, Kohlendioxydanreicherung, Nährstoffmangel, große Temperaturschwankungen und geringe Lichtintensitäten vereinigen sich und schaffen eine abnorme Prädisposition der Rübenpflanze. Unter derartigen Bedingungen führen die nach PETERS (1908) festgestellten Lokalinfektionen junger Seitenwurzeln zur Generalisation des Erregers.

Erfolgreiche Infektionen zweiblättriger Pflanzen waren erst nach künstlicher Infektion über den Vegetationskegel bei 100 % rel. Luftfeuchtigkeit, mindestens 15 °C und geringen Lichtintensitäten oder abnormer Luftzusammensetzung zu erreichen. Hohe Luftfeuchtigkeit und Temperatur gewährleisten hohe Aggressivität von *Pythium* bei gleichzeitiger Schwächung der Pflanze vermutlich durch eine Störung des O_2/CO_2-Verhältnisses (BRUCKER und URBACH 1958).

Bodenbürtige Erreger dürften demnach bei durchschnittlich tiefen Temperaturen (= Frühsaat) nicht pathogen werden, vorausgesetzt, daß für optimale Bodenstruktur und frühzeitiges Nährstoffangebot gesorgt wird. Diese Bedingungen werden heute vom Landwirt weitgehend erfüllt.

Wenn es trotzdem zu bodenbürtigen Wurzelbranderkrankungen kommt, müssen demnach andere Ursachen vorliegen. Der Rübenanbau ist in zunehmendem Maße auf nicht optimale Rübenböden ausgedehnt worden (LÜDECKE 1953).

Die Humusverarmung durch Hackfruchtbau (KLAPP 1954) wird durch Stallmist- und Gründüngung ausgeglichen. In der Humusversorgung sah man bisher lediglich ein Mittel zur Verbesserung des Bodenzustandes und über diese zur Beeinflussung der Prädisposition des Rübenkeimlings. Unbeachtet blieb, daß die organische Düngung sich über Bildung und Zusammensetzung der Mikroflora auf *Pythium* auswirkt.

Nach REMY (1950) ist *Pythium* in sämtlichen Böden verbreitet, die mit Mensch und Tier in Berührung kommen. Sowohl *Pythium* als *Phoma* werden

durch Mikroorganismen gehemmt, um so mehr, je artenreicher die natürliche Mikroflora ist. Unter solchen Bedingungen wirkte sich zusätzliche *Pythium*-Verseuchung nicht infektionsfördernd aus. Ihrer unbegrenzten Zunahme stehen Nahrungskonkurrenz und Antagonismus im Wege, der sich von Wachstumshemmung bis zu Parasitierung und völliger Abtötung erstrecken kann (Weindling 1932, Drechsler 1937, Jaarsveld 1944, Winter 1944, Vasudeva und Govindaswamy 1953, Luke und Connell 1954, Mach 1956, Carter und Lockwood 1957).

Dem Modellversuch (Abb. 5), der sicherlich nicht alle Formen des Antagonismus bot, ist jedenfalls zu entnehmen, daß sich eine geringe Hemmung von *Pythium* in einer längeren Infektionszeit zeigte. Daraus darf weiter gefolgert werden, daß die Infektionszeit in Abhängigkeit von abiotischen und biotischen Faktoren sehr variieren kann. Das erklärt das Absterben vieler Pflänzchen erst nach dem Auflaufen trotz meist vor dem Auflaufen eingetretener Infektion. Likais' (1948) Angabe, die „Infektionsintensität" von *Pythium* werde durch unmittelbar an den Boden gebundene hitzestabile Hemmstoffe vermindert, konnte nicht bestätigt werden, wie auch die Feststellung von Remy (1950) und Greis (1943), daß *Pythium*-Arten in Lehmböden verbreiteter sind als in Sandböden, hierzu im Widerspruch steht. Die entscheidende Hemmwirkung verschiedener Bodenarten geht deshalb zweifellos von der Mikroflora aus.

Aggressivität und Pathogenität von *Pythium* sind die Resultante aus dem Zusammenspiel abiotischer und biotischer Faktoren, wobei die abiotischen Faktoren auch die biotischen beeinflussen können (Allen und Haenseler 1935, Fehér und Frank 1937, Burrichter 1958). Nach Versuchen von Pestinskaja (1956) und Menon und Williams (1957) muß mit einer praktisch durchführbaren Beeinflussung von *Pythium* über die Zusammensetzung der antagonistischen Mikroflora gerechnet werden. Pestinskaja (1956) erkannte, daß frische, nicht zersetzte Pflanzenreste für *Pythium* als Substrat besser geeignet sind als für die übrigen Saprophyten. Mit zunehmender Zersetzung der organischen Substanz nehmen die Antagonisten zu und *Pythium* ab.

Für die Praxis ergibt sich daraus die Konsequenz, Stallmist und Gründung in ausreichender Menge möglichst lange vor der Rübenaussaat in den Boden zu bringen und alles zu unterlassen, was einer Verschiebung der Mikroflora im ungünstigen Sinn Vorschub leisten kann.

Ob *Pythium* über eine Beeinflussung der Mikroflora ganz ausgeschaltet werden kann, bedarf weiterer Klärung. Vorerst muß mit der Gefahr bodenbürtiger Infektionen insbesondere auf Böden an der Grenze der Rübenanbauwürdigkeit gerechnet werden. Deshalb kann auf die Beizung nicht verzichtet werden.

Beizung mit quecksilberhaltigen Mitteln verhindert frühe bodenbürtige Infektionen. Zur Abwehr späterer Infektionen vor dem Auflaufen bei Verlängerung des anfälligen Entwicklungsstadiums und Erhöhung der Aggressivität von *Pythium* wurde COBH entwickelt. Bei Erbsen konnte es nach Frohbergers (1956) und meinen Versuchen diese Aufgabe erfüllen. Bei

Rüben befriedigte es in meinen Versuchen nicht. Beizung gegen *Phoma* nach Ausschaltung von *Pythium* durch Sterilisation des Bodens und gegen *Pythium* nach Abtötung von *Phoma* durch Brom ermöglichte zuverlässige Beurteilung der Wirkung auf die beiden Erregergruppen. Da COBH *Phoma*-Infektionen auch dann nicht verhinderte, wenn die Infektionszeit bei künstlich herabgesetzter Aggressivität oder schwach pathogenen Herkünften lang war, scheidet COBH als Beizmittel gegen *Phoma* aus. Die Ursache der geringen Wirkung von durchschnittlich 10 % blieb ungeklärt.

Die COBH-Wirkung auf *Pythium* an Erbsen ist von der Aggressivität unabhängig, obwohl die Erbse viel empfindlicher ist als die Rübe. An dieser ist die COBH-Wirkung nur insofern aggressivitätsabhängig, als entsprechend der Aggressivität die Infektionen früh oder spät erfolgen können. Die Umpflanzungsversuche (Seite 185) zeigten, daß das anfällige Stadium des Erbsenkeimes viel kürzer dauert als das des Rübenkeimes. Die Anfälligkeit des ersteren nimmt ab, wenn er 4 bis 7 mm lang ist, während letzterer noch anfällig ist, wenn er 10 bis 15 mm, zum Teil sogar 30 bis 40 mm lang ist.

Hg schützt den Keimling, so lange er sich innerhalb des 1- bis 2-mm-Beizhofes befindet (Frohberger 1956). Da COBH das weitere anfällige Entwicklungsstadium der Erbse bis 7 mm schützt, muß zumindest bis zu diesem Stadium eine ausreichende intraplantäre Schutzwirkung bestehen.

Ein erneut anfällig gewordenes 30 mm langes Erbsen-Epikotyl aus COBH-gebeizten Samen konnte infiziert werden; in diesem Stadium, in dem das Rübenhypokotyl noch ohne weiteres infiziert werden kann, muß also die COBH-Wirkung bei der Erbse abgeklungen sein. Immerhin darf mit einiger Sicherheit geschlossen werden, daß COBH den Rübenkeimling solange vor *Pythium* schützt, bis er eine durchschnittliche Länge von 10 bis 15 mm erreicht hat.

Meistens erbrachte jedoch COBH- und Hg-Beizung einen übereinstimmenden Pflanzenbestand, in einem Falle Hg-Beizung sogar einen besseren. Das kann einmal daraus erklärt werden, daß Hg einen Schutz an der Knäueloberfläche bildet, der *Pythium* einen Zugang zum ungekeimten Samen verwehrt. COBH entfaltet seine intraplantäre Schutzwirkung erst im keimenden Samen (Frohberger 1956). Der ungekeimte Samen nimmt nicht genügend COBH auf. Zwar mag die poröse, schwammartige Struktur des Rübenknäuels mehr COBH speichern, aber es kann bei der Keimung nicht so schnell aufgenommen werden wie von der Erbsenradicula, so daß der Rübenkeim vor frühesten Infektionen unzureichend geschützt ist. Darüber hinaus verbessert Hg die Keimung. Diese Wirkung kann nicht auf eine Aktivierung der Wirkstoffe im Samen zurückgeführt werden, wie sie H. Schmidt (1943) allgemein und Roth (1958) bei Gerste vermuten, sondern muß mit Gassner (1952) auf eine Ausschaltung oder Hemmung der Mikroorganismen zurückgeführt werden, was auch von H. Schmidt und Roth für möglich gehalten wird. Ob dabei die Sauerstoffversorgung des keimenden Samens verbessert wird, muß offen bleiben.

Man wird also zusammenfassend feststellen können, daß hygienische Maßnahmen die Entwicklung des keimenden Rübenknäuels derart beeinflussen

können, daß Infektionen durch bodenbürtige Erreger weitgehend unterbleiben bzw. erfolglos bleiben. Diese verlieren weiter mit wachsendem antagonistischem Einfluß der Mikroflora auf *Pythium* an Bedeutung. Um das letzte Risiko bodenbürtiger Wurzelbrandschäden auszuschalten, ist aber eine Beizung unerläßlich. Sie ist um so dringlicher, als die Technisierung im Zuckerrübenbau in Form von Monogermsaat und maschinellem Verhacken lückenloses Aufgehen der Dünnsaat bzw. der Einzelkornsaat erfordert. Geringste Ausfälle durch Wurzelbrandinfektionen müssen unter diesen Umständen verhindert werden. Die von Greis (1942, 108/09) geltend gemachten Gründe für eine Beizung müssen deshalb voll anerkannt werden. Dazu kommt, daß die Beizung nach Winner (1958) meist die Entwicklung der Einzelpflanze fördert und damit den Ertrag steigert.

Hg tötet den samenbürtigen Erreger *Phoma* sicher ab und verhindert frühe bodenbürtige Infektionen. COBH ist späten *Pythium*-Infektionen gegenüber wirksamer als Hg, ohne schon voll zu befriedigen. Demnach muß noch nach einem Beizmittel gesucht werden, das den Rübenkeimling während seines gesamten anfälligen Jugendstadiums schützt.

Zusammenfassung

I.

1. Dreijährige Beobachtungen und Feldversuche von 1956 bis 1958 in den Landkreisen Bonn und Köln ergaben nur wenige bodenbürtige Wurzelbranderkrankungen, während samenbürtige Erreger ohne Beizung große Schäden verursachten. Nach dem Auflaufen starben nur noch wenige Pflanzen ab.

2. Beizungen mit Hg-haltigen organischen Präparaten (Germisan, TB 4362 c [Bayer], Alkyl), metallfreien organischen (Cerenox = Chinonoximbenzoylhydrazon, TMTD) und Kombinationspräparaten mit Hg (Cerenox-Spezial) und TMTD (COBH + TMTD) töteten mit Ausnahme von Cerenox die samenbürtigen Erreger hinreichend sicher ab und gewährleisteten einen normalen Pflanzenbestand.

II.

Der Einfluß abiotischer und biotischer Faktoren auf *Pythium* und vergleichsweise *Phoma* wurde in Gewächshaus- und Laborversuchen untersucht.

1. Sieben Saatgutherkünfte zeigten unterschiedliche Anfälligkeit für *Pythium* und Verseuchung mit *Phoma*. Eine eineinhalbjährige Überlagerung der Ernte setzte die Aggressivität von *Phoma* herab, änderte aber die Anfälligkeit für *Pythium* nicht.

2. Tiefe Temperaturen (5 ° bis 7 °C) minderten den Infektionserfolg von *Pythium* und steigerten den von *Phoma* gegenüber mittleren Temperaturen (12 °C). Erst im Bereich der vollen Wassersättigung des Bodens trat eine

wesentliche Änderung der Pathogenität von *Pythium* auf, seine Aggressivität war in anlehmigem Sand (Komposterde) nicht eindeutig größer als in sandigem Lehm (Ackererde).

3. Infektionen von Rüben mit *Pythium* und *Phoma* erfolgten fast ausschließlich vor dem Auflaufen der Pflänzchen, deren Anfälligkeit für Infektionen über die Wurzel dann erlosch. Der Eintritt dieser Altersresistenz konnte sich bei hochaggressivem *Pythium* bis zu einer Woche hinausschieben. Eine Infektion der Pflanzen im ersten Laubblattstadium gelang nur unter künstlichen Bedingungen über den Vegetationskegel. Erbsen waren nur kurze Zeit, aber in erhöhtem Maße anfällig.

4. Bei Temperaturen über 7 °C gewann die Mikroflora wesentlich an Bedeutung. Hohe Aggressivität von *Pythium* und *Phoma* in sterilisiertem Boden wurde durch Zusatz von fünf Pilzen (vier *Penicillium* sp., *Aspergillus niger*) und durch aerogene Besiedlung mit Mikroorganismen geschwächt; in natürlichem Boden war die Schwächung durch die Mikroflora am größten. Zusätzliche Verseuchung eines natürlichen *Pythium*-haltigen Bodens erhöhte den Infektionserfolg nicht eindeutig.

5. Nach den Ergebnissen der Feld- und Gewächshausversuche muß *Phoma betae* als der maßgebliche Wurzelbranderreger angesehen werden.

III.

1. Beizung gegen *Phoma* mit Germisan (Hg) erwies sich auch im Gewächshause unter verschärften Infektionsbedingungen als ausreichend sicher. Cerenox (COBH) schützte unabhängig von Herkunft und Aggressivität nur 10 % der zu erwartenden Pflänzchen.

2. Gegenüber hochaggressivem *Pythium* an Rüben blieben Cerenox und Germisan wirkungslos und brachten auch bei schwacher Aggressivität keine in allen Fällen zuverlässige Wirkung. Erbsen dagegen wurden durch Cerenox sicher geschützt.

Summary

About root rot of sugar beets and its control

I.

1. Observations and field-experiments in the districts of Bonn and Cologne for three years (1956/58) only showed few root-rot diseases caused by soil-borne pathogens, but without disinfection there was great damage caused by seed-borne agents. After emergence only few plants died off.

2. Disinfection experiments have been carried out with Hg-containing preparations (Germisan, TB 4362c [Bayer], Alkyl), metal-free organic preparations (Cerenox = Chinonoximbenzoylhydrazon, TMTD), and com-

bined preparations with Hg (Cerenox-Spezial) and TMTD (COBH + TMTD). With the exception of Cerenox all these preparations killed the seed-borne pathogens sufficiently and guaranteed a normal amount of plants.

II.

The influence of abiotic and biotic factors on *Pythium* and on *Phoma* was tested in glasshouse- and field-experiments.

1. Seven origins of seeds showed different susceptibility to *Pythium* and infection by *Phoma*. The aggressiveness of *Phoma* was diminished, but the susceptibility to *Pythium* was not altered if the seeds had been stored for 18 months.

2. Deep temperatures (5 to 7 °C) decreased the infections by *Pythium* and increased those by *Phoma* in comparison with medium temperature (12 °C). A fundamental alteration of the pathogenity of *Pythium* did not occur before the soil was fully saturated with water. Its aggressiveness was not distinctly higher in loamy sand (compost) than in sandy loam (field soil).

3. Infections of sugar-beets by *Pythium* and *Phoma* nearly exclusively occurred before the emergence of the plants, and then susceptibility to infection through the roots ceased. This resistance to the highly aggressive *Pythium* may be postponed up to seven days. An infection in the "first leaf" stage was only possible under artificial conditions through the vegetation cone. Peas are susceptible only for a short time, but in a higher degree.

4. Importance of the microflora much increased at temperatures above 7 °C. In sterilised soil the high aggressiveness of *Pythium* and *Phoma* decreased if five fungi (*Aspergillus niger* and four *Penicillium* spec.) were added and by an aerogenic colonization with microorganisms. In natural soil the decrease of aggressiveness caused by the microflora was the highest. Additional infection of a natural *Pythium* containing soil did not distinctly increase the success of infection.

5. According to the results of the field- and glasshouse-experiments *Phoma betae* must be considered to be the decisive agent of root rot.

III.

1. Disinfection against *Phoma* with Germisan (Hg) proved to be sufficiently reliable also in the glasshouse under more severe conditions of infection. Independant of origin and aggressiveness Cerenox (COBH) only protected 10 % of the expected plants.

2. There was not any effect using Cerenox and Germisan against the h i g h l y aggressive *Pythium* on beets, and also at w e a k e r aggressiveness these two preparations were not always reliable. Peas, however, have been reliably protected by Cerenox.

Literaturverzeichnis

Afanasiew, M. M., and H. E. Morris, 1942: Control of seedling disease of sugar beets in Montana. Phytopathology **32**, 477—486.

Allen, M. G., and G. M. Haenseler, 1935: Antagonistic action of *Trichoderma* on *Rhizoctonia* and other soil fungi. Phytopathology **25**, 244—252.

Anderson, H. W., K. J. Kadow and S. L. Hopperstead, 1937: The evaluation of some cuprous oxides recommended as seed-treatment products for the control of damping off. Phytopathology **27**, 575—587.

Angell, H. R., 1954: Partial segregation of bacteria and isolation of *Pythium* from the coarser soil fractions. Austr. J. agric. Res. **5**, 4, 702—705.

Arrhenius, O., 1923/24/25: Försök till bekämpande av betrotbrand. Meded. Centralanst. Föröksv. Jordbruksområdet **26**, 31, 35; Z. f. Pfl.krankh. **34**, 239—240.

Bartl, K., P. Curth, H. E. Fischer und H. Schneider, 1957: Untersuchungen über die Keimfähigkeit von polyploidem Zuckerrübensaatgut. Zucker **8**, 163—168.

Barton, R., 1958: Occurrence and establishment of *Pythium* in soils. Trans. Brit. Myc. Soc. **41**, 207—222.

Beach, W. S., 1949: The effects of solutes, temperature and moisture upon damping off. Pa. Agr. Exp. Sta. Bull. **29**, 509.

Bockstahler, H. W., and G. J. Hogaboam, 1950: Further studies on the inheritance of black root resistance in sugar beets. Proc. Amer. Soc. Sug. Beet Technol. **6**, 104—107.

Braun, H., und F. Nienhaus, 1959: Fortgeführte Untersuchungen über die Kragenfäule des Apfels (*Phytophthora cactorum*). Phytopath. Z. **36**, 169—208.

Brien, H., 1905: Wurzelbrandentdeckung und kein Ende. Blätter f. Zuckerrübenbau **12**, 11, 164—166.

Brucker, W., und W. Urbach, 1958: Zum Kohlensäure-Fließgewicht beim Gaswechsel grüner Pflanzen. Ber. dtsch. bot. Ges. **71**, 321—336.

Buchholtz, W. F., 1938: Factors influencing the pathogenity of *Pythium de Baryanum* on sugar beet seedlings. Phytopathology **28**, 448—475.

— —, 1944: The sequence of infection of a seedling stand of sugar beets by *Pythium de Baryanum* and *Aphanomyces cochlioides*. Phytopathology **34**, 490—496.

Burrichter, E., 1958: Untersuchungen über die Massenentwicklung der Bodenbakterien im Laufe des Jahres. Ber. dtsch. bot. Ges. **71**, 2, 71—80.

Busse, W., L. Peters und P. Ulrich, 1908: Über das Vorkommen von Wurzelbranderregern im Boden. Arb. Biol. Reichsanst. **8**, 1913, 260—302.

Campbell, L., 1940: Black root of sugar beets in the puget sound section of Washington. Rev. Appl. Myc. **19**, 132.

Carter, H., and J. L. Lockwood, 1957: Lysis of fungi by soil microorganisms and fungicides including antibiotics. Phytopathology **47**, 3, 154—158.

Chesters, C. G. C., and R. H. Thornton, 1956: A comparison of techniques for isolating soil fungi. Trans. Brit. Myc. Soc. **39**, 3, 301—313.

Coons, G. H., and D. Stewart, 1927: Prevention of seedling diseases of sugar beets. Phytopathology **17**, 259—296.

— —, J. E. Kotila and H. W. Bockstahler, 1948: Black root of sugar beets and possibilities for its control. Rev. Appl. Myc. **27**, 4, und Proc. Americ. Soc. Sug. Beet Technol. **1946**, 364—380.

Decoux, L., J. Vanderwaeren and G. Roland, 1935: The value of beet seed-cluster disinfection. Sucre belge **15**, 130—134, 145—152.

Domsch, K. H., 1956: Zur Wirkung von Beizmitteln gegen Bodenpilze. Phytopath. Z. **25**, 311—322.

Doran, W. L., 1946: Control of damping off by a delay in first watering after seedling. Phytopathology **36**, 679.

— —, 1953: The control of some soil-borne diseases of plants by fungicides applied to the soil in fertilizer. Rev. Appl. Myc. **32**, 352.

Downie, A. R., M. L. Schuster and R. K. Oldemeyer, 1954: Cooperative field testing of strains of sugar beets for resistance to several root rotting organisms. Rev. Appl. Myc. **33**, 197.

Doyle, R. J., 1947: Controlling sugar beet blackroot. Sugar **1947**, 36—37.

Drechsler, C., 1929: The beet water mold and several related root parasites. J. Agr. Res. **38**, 309—361.

— —, 1937: Two Hyphomycetes parasitic on oospores of root-rotting Oomycetes. Phytopathology **28**, 81—103.

Duggar, M. B., and F. C. Stewart, 1909: The sterile fungus *Rhizoctonia* as a cause of plant disease in America. N. Y. (Cornwell) Agr. Exp. Sta. Bul. **186**, 15—23.

Edson, H. A, 1915: Seedling diseases of sugar beets and their relation to root rot and crown rot. J. Agr. Res. **4**, 135—168.

Eggebrecht, H., 1949: Handbuch der landwirtschaftlichen Versuchs- und Untersuchungsmethodik, Band **V**, 12—23.

Esmarch, F., 1925: Der Wurzelbrand der Rüben. Die kranke Pflanze **2**, 62—64.

— —, 1942: Ebenda, **19**, 19—23.

Fehér, D., und M. Frank, 1937: Experimentelle Untersuchungen über den Einfluß der Temperatur und des Wassergehaltes auf die Tätigkeit der Mikroorganismen des Bodens. Arch. Mikrobiol. **8**, 3, 249—287.

Fischer, R., 1931: Zur Bekämpfung des Wurzelbrandes der Zuckerrübe. Nachr. Schädlingsbekämpfung **6**, 33.

Flor, H. H., 1940: Soil sickness of flax in North Dakota. Phytopathology **30**, 749—760.

Fourmont, R., 1938: Etude sur la désinfection des semences de betteraves par le formol. Ann. des Epiphyties et de phytogénétique. Tome IV, Fasc. 1.

Frank, A. B., 1892: Über *Phoma betae*, einen neuen parasitischen Pilz, welcher die Zuckerrüben zerstört. Z. Ver. Dtsch. Zuckerind. **42**, 903.

Frohberger, P. E., 1956: Untersuchungen über die Wirkung von Chinonoxim-benzoylhydrazon gegen Keimlingskrankheiten verschiedener Kulturpflanzen. Phytopath. Z. **27**, 427—455.

— —, 1957/58: Mündl. und briefl. Mitt.

Garrett, S. D., 1956: Biology of root-infecting fungi. Cambridge, Univ. Press, 1956, 221 ff.

Gassner, G., 1952: Handbuch der Pflanzenkrankheiten, Bd. **VI/I**, 2. Aufl., 1. Lief. 346 ff.

Gates, L. F., and R. Hull, 1954: Experiments on black leg disease of sugar-beet seedlings. Ann. Appl. Biol. **41**, 541—561.

Gäumann, E., 1928: Über die Bekämpfung des Wurzelbrandes der Zuckerrübe. Landw. Jb Schweiz **1928**, 571—582.

— —, 1951: Pflanzliche Infektionslehre. 2. Aufl. Basel **1951**.

Gerhold, N. R., 1957: Sugar beet diseases and their control. Rev. Appl. Myc. **36**, 156.

— —, W. J. Henderson and J. A. Twomey, 1954: Soil treatment for control of blackroot of sugar beets. Rev. Appl. Myc. **33**, 197.

Girginkoç, H. R., 1951: Untersuchungen über die „zwarte houtvatenziekte" der Futter- und Zuckerrübe, verursacht durch *Pythium irregulare* Buisman. Med. Landbouwhoog. Wageningen **51**, 1—61.

Gram, E., 1926: Afsvampnings-Undersøgelser. Beretning fra Statens Forsøgsvirksomhed i Plantekultur **197**.

— —, 1927: I. Investigations in seed disinfection in Denmark. II. Experiments with mangold and sugar beet seed 1920—25. Rev. Appl. Myc. **6**, 72.

Greis, H., 1939: *Macrosporium cladosporioides*, ein Erreger des Wurzelbrandes an der Zuckerrübe. Phytopath. Z. **12**, 360—365.

— —, 1940: Über eine Methode zur quantitativen Bestimmung des Zuckerrüben-Wurzelbrandes, sowohl bei gebeiztem als auch bei ungebeiztem Saatgut. Z. Wirtschaftsgruppe Zuckerindustrie **90**, 197—206.

— —, 1940: Ein Wurzelbrand an der Zuckerrübe, verursacht durch *Alternaria tenuis*. Phytopath. Z. **13**, 196—206.

— —, 1942: Soll Rübensamen gebeizt werden? Z. Wirtschaftsgruppe Zuckerindustrie **92**, 2—46, 85—113.

— —, 1943: Bau, Entwicklung und Lebensweise der Pilze. ENGLER-PRANTL, Natürliche Pflanzenfamilien, 2. Aufl., Bd. **5 a I.**

GUILLEMAT, J., et J. MONTEGUT, 1956: Contribution à l'étude de la microflore fongique des sols cultivés. Ann. Epiphyties **3**, 471—540.

GUTTMANN, A., 1904: Praktische Erfahrungen über das Auftreten und die Bekämpfung des Wurzelbrandes. Dtsch. Landw. Presse **1904**, 64—65.

HANSEN, H. H. H., 1929: Desinfections experiments. Rev. Appl. Myc. **8**, 515.

HAWKINS, A., and R. B. HARVEY, 1920: Physiological study of the parasitism of *Pythium de Baryanum* Hesse on the potato tuber. J. Agric. Res. **18**, 275—297.

HEINZE, K., 1953: Die Schädlinge, Krankheiten und Schädigungen unserer Hackfrüchte (Kartoffeln und Rüben). Berlin **1953**, 292—302.

HILLS, F. J., and L. D. LEACH, 1954: The effect of certain soilrow treatments on damping-off of sugar beet seedlings caused by specific fungi. Rev. Appl. Myc. **33**, 197.

HOLLRUNG, M., 1899: Centralblatt f. Bakteriologie u. Parasitenkunde Abt. **II, V**, 691—694.

JAARSVELD, A., 1944: Der Einfluß verschiedener Bodenpilze auf die Virulenz von *Rhizoctonia solani* Kühn. Phytopath. Z. **14**, 1—75.

JACKS, H., 1951: Efficiency of chemical treatments of vegetable seeds. Ann. Appl. Biol. **38**, 135—168.

KLAPP, E., 1954: Lehrbuch des Acker- und Pflanzenbaues. Berlin **1954**, 4. Aufl., 314, 337—338.

KLEUKER, F., 1905: Über Wurzelbrand an Zuckerrüben. Dtsch. Landw. Presse **1905**, 550.

KORFF, G., und K. BÖNING, 1930: Beiträge zur Bodenbehandlung und partiellen Bodendesinfektion. Phytopath. Z. **2**, 39—86.

KÜSTER, A., 1927: Rübenbeize gegen Wurzelbrand. Dtsch. Landw. Presse **1927**, 688.

L. P., 1903: Dtsch. Landw. Presse 794.

LEACH, L. D., 1947: Growth rates of host and pathogen as factors determining the severity of preemergence damping off. J. Agr. Res. **75**, H. 5 u. 6, 161—180.

— —, 1948: Seed-borne *Phoma* and its relation to the origin of sugar beet seed lots. Rev. Appl. Myc. **27**, 3.

LIKAIS, R., 1948: Einfluß des Bodens und antagonistischer Bodenmikroben auf den Parasitismus von *Pythium de Baryanum*. Arch. Mikrobiol. **18**, 49—100.

LINHART, G., 1899: Centralblatt f. Bakteriologie u. Parasitenkunde Abt. II, **V**, 221—222.

LINNASALMI, A., 1953: Damping off on herbaceous vegetables and ornamental plants grown under glass in Finnland. Rev. Appl. Myc. **31**, 412.

LUIJK, A. VAN, 1938: Antagonism between various microorganisms and different species of genus *Pythium* parasitizing upon grasses and luzerne. Meded. Phytopath. Lab. Willie Commelin Scholten **14**, 43—82.

LÜDECKE, H., 1953: Zuckerrübenbau. Hamburg und Berlin **1953.**

LUKE, H.-H., and T. D. CONNELL, 1954: Studies on antibiotic soil organisms. II. Bacteria and fungi antagonistic to *Pythium arrhenomanes* in sugarcane soils of Louisiana. Phytopathology **44**, 374—379.

MACH, F., 1956: Untersuchungen über die Möglichkeiten einer Bekämpfung phytopathogener Pilze mit saprophytischer Bodenphase (Vermehrungspilze) durch Superinfektion mit antagonistisch aktiven *Streptomyces*-Stämmen. Zbl. Bakt. **110**, 1—25.

MATTHEWS, V. D., 1931: Studies on the genus *Pythium*. Chapel Hill the University of North Carolina Press **1931**, 82—87.

MENON, S. K., and L. E. WILLIAMS, 1957: Effect of crops, crop residues, temperature, and moisture on soil fungi. Phytopathology **47**, 559—564.

MEURS, A, 1928: Ein neuer Wurzelbranderreger der Zucker- und Futterrüben. Phytopath. Z. **1**, 111—116.

MUDRA, A., 1952: Einführung in die Methodik der Feldversuche. Leipzig **1952.**

MUKHERJI, S, 1957: Untersuchungen zur Änderung der Pathogenität von *Alternaria porri* (E. M.) Neerg. f. sp. *solani*. Diss. Bonn-Poppelsdorf **1957.**

NEWTON, W., and J. E. BOSHER, 1946: The longevity of *Phoma betae* in garden beet. Sci. Agric. **26**, 7, 305—306.

Oberdorfer, 1930: Trockenbeizversuch gegen den Wurzelbrand der Zuckerrübe. Nachr. Schädlingsbekämpfung **5**, 1, 35/36.

Park, D., 1957: Behaviour of soil fungi in the presence of bacterial antagonists. Trans. Brit. Myc. Soc. **40**, 283—291.

— —, 1957: Fungal antagonists. Trans. Brit. Myc. Soc. **40**, 358—364.

Pestinskaja, T. W., 1956: Eigentümlichkeiten der Biologie des Pilzes *Pythium de Baryanum* Hesse und mögliche Wege seiner Unterdrückung im Boden. Botaniceskij Zurnal **41**, 571—575.

Peters, L., 1908: Über den Erreger des Wurzelbrandes. Arb. Biol. Reichsanst. **8**, 1913, 211—259.

Pichler, F., 1941: Prüfung von Beizmitteln gegen Wurzelbrand der Rübe im Feldversuch. Nachrbl. Dtsch. Pflschutzd. **21**, 50.

Plaut, M., 1926: Beiz- und Stimulationsversuche mit Zuckerrübensamen und Getreide. Z. Pflkrankh. **36**, 321—351.

— —, 1929: Altes und Neues zu Beizfragen, speziell der Rübensaat. Der Züchter **1**, 96—100.

— —, 1929: Wurzelbrand, Auflauf und Beizung von Rübensamen. Nachr. Schädlingsbekämpfung **4**, 1—11.

Porter, R. H., and W. N. Rice, 1940: Laboratory and field germination of treated and untreated beet seed. Rev. Appl. Myc. **19**, 636.

Remy, E., 1950: Über niedere Bodenphycomyceten. Arch. Mikrobiol. **14**, 212—239.

Riehm, E., 1937: Saat- und Pflanzgutentseuchung. Handb. d. Pflkrankh. **6. Bd.**, 1. Teil, Berlin, 231—233.

Roth, G., 1958: Einfluß der Quecksilber-Beizung auf Keimung und Jugendwachstum der Gerste unter besonderer Berücksichtigung ihrer selektiven Wirkung auf die samenbegleitende Mikroflora. Phytopath. Z. **34**, 137—168.

— —, 1946: Soil-borne disease in relation to the microflora associated with various crops and soil treatments. Soil Science **61**, 9—21.

Roth, L. F., and A. J. Riker, 1943: Influence of temperature, moisture and soil reaction on the damping off of red pine seedlings by *Pythium* and *Rhizoctonia*. J. Agr. Res. **67**, 7, 273—293.

Schaffnit, E., und K. Meyer-Hermann, 1930: Über den Einfluß der Bodenreaktion auf die Lebensweise von Pilzparasiten und das Verhalten ihrer Wirtspflanzen. Phytopath. Z. **2**, 99—111, 119—132.

Schmidt, E., C. Berg, E. W. Contzen, F. Komp Peill und E. Gerards, 1958: Briefliche Mitteilungen.

Schmidt, E. W., 1928 und 1934: Über den Wurzelbrand der Rüben und den Pilz *Phoma betae*. Dtsch. Zuckerindustrie **53**, 401—403; **59**, 520—521.

Schmidt, H., 1943: Samenbeizung. Wiesbaden **1943**.

Snedecor, G. W., 1946 und 1956: Statistical methods. Iowa State Coll. Press **1946** u. **1956**.

Stehlik, V., und F. Neuwirth, 1929: Soll man Rübensamen stimulieren und gegen Wurzelbrand beizen? Z. Zuckerind. **1929**, 181—189.

Stift, A., 1900: Die Krankheiten und thierischen Feinde der Zuckerrübe. Wien **1900**, 1—31.

Terényi, A., 1929: Die Bekämpfung des Wurzelbrandes der Zuckerrübe. Pflanzenbau **5**, 309—315.

Throw, A. H., 1901: Observations on the biology and cytology of *Pythium ultimum* n. sp. Ann. Bot. **15**, 269.

Tompkins, C. M., and D. A. Park, 1932: Effect of temperature on rate of decay of sugar beets by strains of *Phoma betae*. J. Agr. Res. **44**, 29—37.

Vasudeva, R. S., and C. V. Govindaswamy, 1953: Studies on the effect of associated soil microflora on *Fusarium udum* Butl., the fungus causing wilt of pigeon-pea (*Cajanus cajan* [L.] Millsp.), with special reference to its pathogenicity. Ann. Appl. Biol. **40**, 573—583.

Vibrans, G., 1905: Wurzelbrand der Rüben. Dtsch. Landw. Presse **1905**, 767.

Warren, J. R., 1948: A study of the sugar beet seddling disease in Ohio. Phytopathology **38**, 883—892.
Weber, E., 1956: Grundriß der biologischen Statistik für Naturwissenschaftler und Mediziner. Jena.
Weindling, R., 1932: *Trichoderma lignorum* as a parasite of other soil fungi. Phytopathology **22**, 837—845.
Wette, R., 1958: Briefl. Mitt.
Winner, C., 1958: Zur praktischen Bewertung der Anwendung von Saatschutzmitteln bei einer Pflanzenkultur mit gleichmäßiger Standweite. Z. Pflkrankh. **65**, 141—153.
Winter, A. G., 1944: Der Einfluß partieller Sterilisation des Bodens auf die Entwicklung der Laufhyphen von *Ophiobolus graminis*. Phytopath. Z. **14**, 204—302.
Woodward, R. C., and W. A. R. Weston, 1929: Treatment of sugar beet 'seed' to prevent seedling diseases. Ann. Appl. Biol. **16**, 542—566.
Wright, E., 1957: Influence of temperature and moisture on damping off of American and Siberian elm, black locust, and desertwillow. Phytopathology **47**, 658—662.
Wright, J. M., 1954: The production of antibiotics in soil. I. Production of gliotoxin by *Trichoderma viride*. Ann. Appl. Biol. **41**, 280—289.
Zhukova, Mme. K. P., 1953: The effect of the acidity and moisture content of the soil on the infection of sugar beet seedlings by root rot agents (*Pythium* and *Phoma*). Rev. Appl. Myc. **32**, 4.
Zutavern, 1926: Wurzelbrand bei Rüben. Dtsch. Landw. Presse **1926**, 342.
1920—1930: Mitt. B. R. A., H. 21—50.
1955: Pflanzenschutzamt Bonn. Mündl. Mitt.

Aus dem Institut für Pflanzenzüchtung, Fertöd, Ungarn

Untersuchungen über die Geschlechtsumwandlung bei *Melandrium album* Mill. nach Infektion mit *Ustilago violacea* (Pers.) Fckl. unter besonderer Berücksichtigung der Auxinoxydase und Flavonoide

Von

A. Garay und F. Sági

Mit 2 Abbildungen

Inhalt: Versuchsmaterial. — Methoden. 1. IES-Oxydase; 2. Flavonoide. — Ergebnisse. 1. IES-Oxydase; 2. Flavonoide. — Zusammenfassung. — Summary. — Literaturverzeichnis.

Wenn die weiblichen Exemplare von *Melandrium album* durch *Ustilago violacea* befallen werden, entwickeln sich Staubblätter in den Blüten. In Verbindung mit der Geschlechtsumwandlung werden offensichtlich auch einige physiologisch-biochemische Prozesse betroffen. In der vorliegenden Arbeit wird über die parasitogen bedingten Veränderungen der Aktivität der Auxinoxydase (Indolylessigsäureoxydase) und im Gehalt an Flavonoiden berichtet. Die Bedeutung der pflanzlichen Wuchsstoffe hinsichtlich der Geschlechtsverhältnisse höherer Pflanzen ist bekannt (Heslop-Harrison 1957). Außerdem wurden parasitogen induzierte Aktivitätsveränderungen der Indolylessigsäureoxydase (IES-oxydase) kürzlich von Pilet (1957) beschrieben. Als Ausgangspunkt für die Versuche über die Flavonoide dienten die Versuchsergebnisse von Blumer (1941), nach denen das sicherste Merkmal der *Ustilago violacea*-Infektion eine intensive Anthocyanbildung der Stengel befallener *Melandrium*-Pflanzen sei. Eingehendere Versuchsangaben über diese Beobachtung wurden jedoch nicht veröffentlicht.

VERSUCHSMATERIAL

Das Versuchsmaterial wurde in den Wäldern, die unser Institut umgeben, gesammelt. Es konnte eine große Anzahl von gesunden weiblichen (G♀), infizierten weiblichen (U♀), gesunden männlichen (G♂) und infizierten männlichen (U♂) *Melandrium*-Exemplaren gefunden werden. Das Pflanzenmaterial wurde immer zu gleicher Zeit, zwischen 9 und 10 Uhr

morgens, gesammelt und sofort aufgearbeitet, um eventuelle, durch die endogene Tagesrhythmik und den unterschiedlichen Wasserverlust verursachte Versuchsfehler (NÖLL 1955) zu vermeiden. Auf Grund von Vorversuchen wurden nur solche Kelchblätter (Kbl) aufgearbeitet, die geöffnete Blüten umgaben. Die Kelchblätter von Knospen oder verblühten Blüten wurden nicht in die Versuche einbezogen. Auf diese Weise erhielten wir ein Versuchsmaterial, das einheitlicher war als die Blütenstiele oder die Blätter. IES-Oxydase wurde aus den Narben von gesunden Blüten extrahiert.

METHODEN

1. IES-Oxydase

Die Aktivität der IES-Oxydase wurde nach STUTZ (1957) im Warburg-Apparat gemessen. Die Aktivitätswerte werden als Zunahme der O_2-Aufnahme nach Zugabe von IES zu den Pflanzenextrakten angegeben. Da jedoch Veränderungen in der O_2-Aufnahme auch durch andere Prozesse verursacht werden können, die die IES-Oxydation überdecken, wurde der Inhalt der Warburggefäße, nach einer bestimmten Inkubationsdauer, papierchromatographisch untersucht. Dazu wurden eindimensionale Chromatogramme nach der aufsteigenden Methode mit Isopropanol-Ammoniak-Wasser 80 : 5 : 15 hergestellt. Nach der Entwicklung wurden die Papiere mit Salper (Gordon-Weber)-Reagenz besprüht. Die Auxinflecke konnten im UV-Licht identifiziert und planimetrisch auch halbquantitativ erfaßt werden. Der Vergleich der papierchromatographischen Ergebnisse mit denen der manometrischen Versuche ergab, daß die O_2-Aufnahme und die Auxinspaltung einander völlig entsprechen. Die Dialyse wurde nach STUTZ (1957) ausgeführt. Die Enzymextraktion erfolgte mit kaltem dest. Wasser im Verhältnis 5 : 1. Das System wurde nach STUTZ gepuffert und davon je 1 ml für die Aktivitätsmessungen je Warburggefäß verwendet. In Versuchen zur Demonstration der Aktivatoren in den Kelchblättern wurden die Homogenisate mit kaltem Wasser im Verhältnis 3 : 1 hergestellt und 0,5 ml dieser Suspension den Narbenextrakten in den Warburggefäßen zugesetzt.

2. Flavonoide

Zur Messung des Anthocyangehaltes hatten wir 2 g homogenisierter Kelchblätter kalt mit 1 % HCl enthaltendem Methanol extrahiert. Die Extrakte wurden dann filtriert (Glasfilter) und mit HCl-Methanol auf 50 ml aufgefüllt. Die Messung des Anthocyangehaltes erfolgte photometrisch nach SWAIN und HILLIS (1959). Zur quantitativen Bestimmung der Flavonole wurden 2 g homogenisierter Kelchblätter mit heißem 80%igem Äthanol erschöpfend extrahiert. Die Messung des Gehaltes an Flavon-Pigmenten erfolgte nach dem Filtrieren in den auf 100 ml aufgefüllten Extrakten nach MIKHAJLOV (1958).

Für die qualitativen Untersuchungen wurden die rohen Extrakte im Vakuum eingeengt und nach Filtrieren papierchromatographisch (eindimensional, aufsteigende Technik, Papier: Macherey & Nagel Nr. 214) untersucht. Zur Chromatographie der Anthocyane dienten die folgenden Lösungsmittel-

gemische: m-Kresol-Eisessig-Wasser 50 : 2 : 48 oder Äthylacetat-t-Butanol-Eisessig-Wasser 5 : 4 : 1 : 3. Zur Trennung der Flavonole verwendeten wir die folgenden Gemische: Chloroform-Isobutanol-Wasser 2 : 4 : 4 und Äthylacetat-Ameisensäure-Wasser 10 : 2 : 3. Die Chromatogramme der Flavonole wurden mit Ammoniak bzw. Wilson-Reagenz behandelt und bei Tageslicht bzw. im UV-Licht vor und nach der Behandlung untersucht. Zur Gewinnung der Aglykone wurden die Extrakte nach BATE-SMITH (1954) hydrolysiert. Die Aglykone konnten dann mittels Isopentanol bzw. Äthylacetat ausgeschüttelt und mit Essigsäure-HCl-Wasser 30 : 3 : 10 bzw. n-Butanol-Essigsäure-Wasser 4 : 1 : 5 chromatographiert werden. Gleichzeitig wurden authentische Testsubstanzen aufgetragen.

ERGEBNISSE

1. IES-Oxydase

Die Aktivität der IES-Oxydase wurde in Auszügen aus verschiedenen Teilen von *Melandrium album* untersucht. Es konnte dabei festgestellt werden, daß die Homogenisate aus den Blättern, Kelchblättern, Sproßachsen, Ovarien und Staubblättern keine IES-Oxydase-Aktivität aufweisen. Diese Ergebnisse sprechen nicht notwendigerweise für das Fehlen dieses Enzyms in den betreffenden Organen. In vielen Fällen sind nämlich verschiedene Reinigungsverfahren zur Demonstration der Enzymaktivität nötig (COLOWICK und KAPLAN 1955).

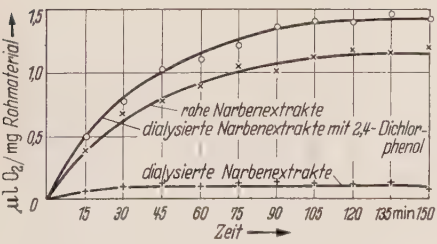


Abb. 1. Die IES-Oxydase-Aktivität der Narbe von *Melandrium album*

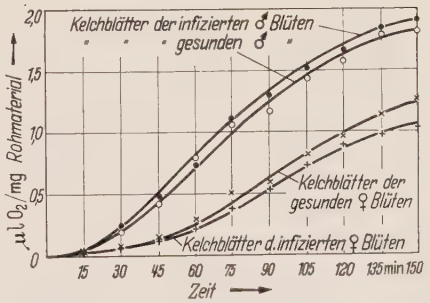


Abb. 2. Die Wirkung der Kelchblätterauszüge von gesunden und infizierten *Melandrium album*-Pflanzen auf die Auxinoxydase-Aktivität der Narbenextrakte

In den folgenden Versuchen hatten wir die wäßrigen Extrakte von Narbengeweben verwendet, die die IES im allgemeinen auch in rohen Präparaten rasch oxydierten. Gelegentlich wiesen jedoch die Homogenisate der Narbengewebe keine merkliche IES-Oxydase-Aktivität auf. In diesen Fällen handelt es sich wahrscheinlich um den Einfluß von Außenfaktoren, die zur Anhäufung von Inhibitoren führen. Diese Homogenisate zeigten nach einer Dialyse von 48 Std. beim Vorhandensein von 2,4-Dichlorphenol (STUTZ 1957) ebenfalls normale Aktivitäten (Abb. 1).

In den folgenden Experimenten wurde untersucht, ob die Aktivität der IES-Oxydase der Narbe unter dem Einfluß der Infektion eine Veränderung erfährt und ob in den männlichen bzw. weiblichen Individuen Inhibitoren oder Aktivatoren der IES-Oxydase vorliegen. Die erste Frage konnten wir wegen methodischer Schwierigkeiten nicht eindeutig beantworten. In den infizierten Exemplaren ist die Narbe stark reduziert, so daß Versuchsmaterial nicht in genügender Menge zur Verfügung stand. Wir konnten jedoch feststellen, daß die Narbengewebe der befallenen Blüten eine beträchtliche IES-Oxydase-Aktivität aufweisen; eventuelle quantitative Verschiedenheiten konnten aber nicht erfaßt werden. Demgegenüber gelang es, das Vorhandensein von Stimulatoren der Auxinoxydase in Kelchblättern männlicher Individuen nachzuweisen. Ähnliche Substanzen kommen in den Kelchblättern weiblicher Exemplare nicht vor. Die diesbezüglichen Angaben sind in Abbildung 2 aufgetragen. Aus dem Vergleich von Abbildung 1 und 2 geht hervor, daß die Auszüge aus Kelchblättern in der Aktivität der IES-Oxydase eine „Lag"-Phase erzeugen. Die Extrakte männlicher Kelchblätter üben später eine stimulierende Wirkung aus, während die der weiblichen Kelchblätter überhaupt keine fördernde Wirkung auf die IES-Oxydase zeigen. Diese Verhältnisse werden durch die Infektion nicht verändert, da die kleinen Abweichungen im Verlauf der zwei entsprechenden Kurven innerhalb der Fehlergrenze liegen.

2. Flavonoide

Der relative Gehalt der Kelchblätter an Anthocyanen und Flavonolen ist in der Tabelle dargestellt. Die Ergebnisse sind in Extinktionen als Durchschnittswerte von 5 Analysen angegeben. Die Analysen wurden im August und September ausgeführt.

Der relative Gehalt der Kelchblätter von gesunden und mit *Ustilago violacea* infizierten *Melandrium album*-Blüten an Anthocyanen und Flavonolen

	Extinktion × 1000	
	530 mμ Anthocyane	420 mμ Flavonole
G♀ Kbl	122	583
U♀ Kbl	220	388
G♂ Kbl	424	536
U♂ Kbl	486	256

Wir müssen betonen, daß einzelne Analysenergebnisse von den Durchschnittswerten wesentlich abwichen. Das kann hauptsächlich durch die Schwankungen der Licht- und Temperaturverhältnisse erklärt werden, die den Gehalt an Flavonoiden bekanntlich stark beeinflussen (siehe BLANK 1947, BASSLER 1957). Die Tendenz der Differenzen zwischen den einzelnen Proben war jedoch in jedem Falle gleich.

In den Chromatogrammen der sauren Methanol-Auszüge aller Kelchblätter traten 3-3 Anthocyanflecke mit gleichen R_F-Werten auf. Die Chromatogramme der hydrolysierten Auszüge weisen auf das Vorhandensein von einem einzigen Aglykon, Cyanidin, hin. Demnach sind die Anthocyane der Kelchblätter Cyanidin-Glykoside.

In den Äthanol-Extrakten konnte das Vorhandensein von 6-6 Flavonolen nachgewiesen werden. Diese waren bei den verschiedenen Kelchblättern

identisch. Nach den ausgeführten Reaktionen handelt es sich wahrscheinlich um Flavonol-Glykoside ohne oder mit substituierter OH-Gruppe in Stellung 3 und mit einer freien OH-Gruppe in Stellung 5. Ihre Hydrolyseprodukte ergaben 3 chromatographisch trennbare Aglykone, deren Identifizierung jedoch nicht gelang.

Es konnte auch beobachtet werden, daß der Chlorophyllfleck, der in den Chromatogrammen mit der Frontlinie wanderte, im Falle infizierter Kelchblatt-Auszüge immer kleiner war, als bei gesunden Kelchblättern.

Nach den Versuchsergebnissen sind in den Kelchblättern (Kbl) von *Melandrium album* beider Geschlechter die Flavonoide qualitativ identisch. Diese Verhältnisse werden durch die Infektion von *Ustilago violacea* nicht verändert. Demgegenüber enthalten die Kelchblätter der männlichen Blüten immer mehr Anthocyane, als die der weiblichen Blüten:

$$G\,♂\ Kbl\ /\ G\,♀\ Kbl = 3{,}5$$
$$U\,♂\ Kbl\ /\ U\,♀\ Kbl = 2{,}2$$

Der Gehalt an Anthocyanen wird infolge der *Ustilago violacea*-Infektion stark erhöht:

$$U\,♀\ Kbl\ /\ G\,♀\ Kbl = 1{,}8$$
$$U\,♂\ Kbl\ /\ G\,♂\ Kbl = 1{,}15$$

Die Abnahme der Flavonole in den Kelchblättern der infizierten Pflanzen ist auffallend:

$$U\,♀\ Kbl\ /\ G\,♀\ Kbl = 0{,}66$$
$$U\,♂\ Kbl\ /\ G\,♂\ Kbl = 0{,}47$$

BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE

1. IES-Oxydase

Es ist bekannt, daß zwischen der pflanzlichen Sexualität und dem Auxingehalt ein gewisser Zusammenhang besteht (Heslop-Harrison 1957). In getrenntgeschlechtlichen Pflanzen konnte nach Auxinbehandlung eine Verschiebung nach dem weiblichen Geschlecht beobachtet werden (Laibach und Kribben 1950), d. h. daß der niedrige Auxingehalt die Ausbildung von männlichen Blüten fördert (Heslop-Harrison 1956). Unsere Ergebnisse befinden sich mit diesen Angaben im Einklang, da gezeigt werden konnte, daß die Kelchblätter männlicher Blüten die Aktivität der IES-Oxydase stimulieren und dadurch wahrscheinlich ein niedriges Auxinniveau sichern. Die parasitogen induzierte Geschlechtsumwandlung führt — nach unseren Versuchen — nicht zur Bildung von solchen Aktivatoren der IES-Oxydase in den weiblichen Kelchblättern wie sie in den männlichen Blüten vorliegen. Obwohl die Untersuchungen in dieser Richtung noch weitergeführt werden müssen, kann die Meinung geäußert werden, daß die Maskulinisierung nicht mit der Auxinoxydase-Aktivität der Wirtspflanze in ursächlichem Zusammenhang steht.

2. Flavonoide

Durch Pilzinfektion verursachte Anthocyanbildung und gleichzeitige Abnahme des Chlorophyllgehaltes ist bei einigen Pflanzen aus einer älteren Arbeit von LIPPMAA (1927) bekannt. In den Kelchblättern der infizierten *Melandrium*-Pflanzen wurde auch von uns eine Zunahme des Anthocyangehaltes und eine Abnahme des Chlorophyllgehaltes beobachtet. Qualitative Unterschiede zwischen den Flavonoiden der gesunden und infizierten Pflanzen wurden nicht festgestellt. Es kann angenommen werden, daß für die Geschlechtsumwandlung irgendwelche Stoffwechselprodukte von *Ustilago violacea* verantwortlich sind. Einige durch Streptomycinbehandlung induzierte Veränderungen bei *Brassica*, die in stoffwechselphysiologischer Hinsicht der Wirkung des *Ustilago violacea*-Befalls ähnlich sind, lassen eine gewisse Parallele zwischen der Wirkung von Streptomycin und dem angenommenen Stoffwechselprodukt von *Ustilago violacea* vermuten. KANDELER (1959) hat nämlich beobachtet, daß in *Brassica*-Keimpflanzen nach Streptomycinbehandlung die Menge an Anthocyanen um 50% ansteigt und die Chlorophyllbildung gleichzeitig ausbleibt. Ferner werden die genetischen Eigenschaften nach DEKEN-GRENSON (1955) von Streptomycin nicht beeinflußt.

Die fördernde Wirkung von Streptomycin auf die Anthocyansynthese ist mit der Blockierung der Eiweißsynthese verknüpft, die zur Anhäufung von aromatischen Aminosäuren führt (KANDELER 1959). Da an der Synthese des Molekülgrundskelettes der Anthocyane und Flavonole grundsätzlich dieselben Vorgänge beteiligt sind (GRISEBACH 1957, WATKIN, UNDERHILL und NEISH 1957), sollte die Menge an Flavonolen in den Kelchblättern der infizierten Blüten ebenfalls ansteigen, wenn die geäußerte Hypothese richtig ist. Der Flavonolgehalt ist aber in den Kelchblättern von *Melandrium*-Blüten nach Infektion niedriger. HILLIS und SWAIN (1959) hatten dieselbe Feststellung an Pflaumenblättern gemacht, die mit *Stereum purpureum* infiziert waren. Deshalb kann die Wirkung des *Ustilago violacea*-Befalles auf die Flavonoide nicht ohne weiteres mit der Streptomycinwirkung verglichen werden. Dieser Befund bedarf weiterer Untersuchungen. Wahrscheinlich wirkt die *Ustilago*-Infektion auf die Anthocyane und Flavonole der Kelchblätter durch verschiedene Mechanismen. In dieser Hinsicht muß auch die Geschlechtsumwandlung berücksichtigt werden. Dafür spricht die Beobachtung, daß in den Kelchblättern der weiblichen Blüten der Anthocyangehalt immer niedriger ist als in den männlichen. Nach der Infektion mit *Ustilago violacea* wird jedoch in den Kelchblättern der männlichen Blüten die Menge an Anthocyanen kaum beeinflußt, während die der weiblichen Blüten stark ansteigt (Tab.). Die Versuche, nach denen die Kelchblätter der männlichen Blüten von *Melandrium album* mehr Anthocyane enthalten als die der weiblichen Blüten, und die für die Verschiebung des Anthocyangehaltes der weiblichen Kelchblätter nach dem Niveau der männlichen unter dem Einfluß der *Ustilago*-Infektion sprechen, sind auch hinsichtlich der alten Meinungsverschiedenheiten über die Rolle von Flavonoiden in der pflanzlichen Sexualität (HARTSHORNE 1958) wichtig. Die Fortsetzung der Versuche in dieser Richtung ist also wünschenswert.

Nach Hartshorne (1958) sind die Anthocyanidine der Blütenblätter der diözischen Blütenpflanzen — von einigen Ausnahmen abgesehen — identisch. Unsere Versuche bestätigen diese Befunde und ergänzen sie mit der Feststellung, daß im Falle der *Melandrium album*-Kelchblätter nicht nur die Anthocyanidine, sondern auch die Flavonolaglykone und ihre Glykoside keine qualitativen Verschiedenheiten aufweisen.

Zusammenfassung

1. Die wäßrigen Homogenisate der Narbengewebe von *Melandrium album* weisen Auxinoxydase-Aktivität auf.

2. Auszüge aus den Kelchblättern von männlichen *Melandrium*-Blüten stimulieren die Auxinoxydase-Aktivität der Homogenisate der Narbengewebe.

3. Die Infektion und die damit verbundene Maskulinisierung ist nicht mit der Bildung von Stimulatoren der IES-Oxydase verknüpft, deren Vorhandensein in den Kelchblättern männlicher Exemplare nachgewiesen werden konnte.

4. Die Kelchblätter männlicher Blüten enthalten größere Mengen an Anthocyanen als die Kelchblätter der weiblichen Blüten.

5. Nach Infektion mit *Ustilago violacea* nähert sich der Anthocyan-Gehalt der Kelchblätter weiblicher Blüten dem Niveau des Anthocyangehaltes der männlichen Blüten.

6. Nach Infektion nimmt der Flavonolgehalt in den Kelchblättern beider Geschlechter beträchtlich ab.

7. Die Kelchblatt-Anthocyane gehören ausnahmslos zu den Cyanidinglykosiden.

8. Es bestehen keine qualitativen Differenzen in der Zusammensetzung der Flavonoid-Komponente der männlichen bzw. weiblichen Kelchblätter. Auch die *Ustilago*-Infektion übt keine Veränderungen in der Zusammensetzung der Flavonoide aus.

Summary

Investigations on sex reversal in *Melandrium album* Mill. after infection with *Ustilago violacea* (Pers.) Fckl., with particular reference to auxin-oxidase and flavonoids

(1) The aqueous homogenates of stigma tissues of *Melandrium album* display auxin-oxidase activity.

(2) Extracts of the sepals of male flowers of *Melandrium* stimulate the auxin-oxidase activity of the homogenates of the stigma tissue.

(3) Infection and the masculinization that goes with it are not associated with the formation of stimulators of indoleacetic acid-oxidase, the presence of which could be demonstrated in the sepals of male individuals.

(4) The sepals of male flowers contain greater amounts of anthocyanins than the sepals of female flowers.

(5) After infection with *Ustilago violacea* the anthocyanin content of the sepals of female flowers approaches the level of the anthocyanin content of the male flowers.

(6) After infection the flavonol content in the sepals of both sexes diminishes markedly.

(7) The anthocyanins of the sepals belong exclusively to the cyanidin glycosides.

(8) No qualitative differences exist in the composition of the flavonoid components of the male or female sepals. Nor does *Ustilago* infection cause any alterations in the composition of the flavonoids.

Literaturverzeichnis

Bassler, R., 1957: Der Einfluß ökologischer und ontogenetischer Faktoren auf die Flavone von *Fagopyrum sagittatum* Gilib. Pharmazie **12**, 758—772.

Bate-Smith, E. C., 1954: Leuco-anthocyanins. I. Detection and identification of anthocyanidins formed from leuco-anthocyanins in plant tissues. Biochem. J. **58**, 122—125.

Blank, F., 1947: The anthocyanin pigments of plants. Bot. Rev. **13**, 241—317.

Blumer, S., 1941: Weitere Untersuchungen über das Auftreten von Teilinfektionen beim Antherenbrand von *Melandrium album*. Ber. schweiz. Bot. Ges. **51**, 395—400.

Colowick, S. P., and N. O. Kaplan, 1955: Methods in enzymology. New York.

Deken-Grenson, M. de, 1955: Action de la streptomycine sur la formation des chloroplastes. Biochem. Biophys. Acta **17**, 35—47.

Grisebach, H., 1957: Zur Biogenese des Cyanidins. I. Mitt.: Versuche mit Acetat (1-C^{14}) und Acetat (2-C^{14}). Z. Naturforschg. **12 b**, 227—231.

Hartshorne, J. N., 1958: Pigmentation and sexuality in plants. Nature **182**, 1382—1383.

Heslop-Harrison, J., 1956: Auxin and sexuality in *Cannabis sativa*. Physiol. Plant. **9**, 588 bis 597.

— —, 1957: The experimental modification of sex expression in flowering plants. Biol. Rev. **32**, 38—90.

Hillis, E. W., and T. Swain, 1959: The phenolic constituents of *Prunus domestica*. II. The analysis of tissues of the Victoria plum tree. J. Sci. Food. Agric. **10**, 135—144.

Kandeler, R., 1959: Über die Wirkung von Dunkelrot- und Weißlicht auf die Anthocyanbildung nach Ausschaltung der Chlorophyllbildung durch Antibiotika. Naturwissenschaften **46**, 452—453.

Laibach und Kribben, 1950: Der Einfluß von Wuchsstoff auf die Blütenbildung der Gurke. Naturwissenschaften **37**, 114—115.

Lippmaa, T., 1927: Beobachtungen über durch Pilzinfektion verursachte Anthocyaninbildung. Acta Comm. Univ. Tartuensis **A 12**, 1—37.

Mikhajlov, M. K., 1958: A method for determination of the flavonoids in tobacco. Naturwissenschaften **45**, 389.

Nöll, G., 1955: Untersuchungen über den Einfluß verschiedener Faktoren auf den Flavonolgehalt von *Fagopyrum esculentum* und *Fagopyrum tataricum*. Pharmazie **10/11**, 679 bis 691.

Pilet, P. E., 1957: Activité antiauxines-oxydasique de l'*Uromyces pisi* (Pers.). Phytopath. Z. **31**, 162.

Stutz, R., 1957: The IAA-oxidase of *Lupinus albus* L. Plant Phys. **32**, 31—39.

Swain, T., and W. E. Hillis, 1959: The phenolic constituents of *Prunus domestica*. I. The quantitative analysis of phenolic constituents. J. Sci. Food. Agric. **10**, 63—68.

Watkin, J. E., E. W. Underhill and A. C. Neish, 1957: Biosynthesis of quercetin in buckwheat. II. Canad. J. Biochem. **35**, 229—237.

Kurze Mitteilung

Aus der Biologischen Zentralanstalt der Deutschen Akademie der Landwirtschaftswissenschaften zu Berlin
Institut für Phytopathologie Aschersleben
Direktor: Prof. Dr. M. Klinkowski

Zur Differenzierung von Kirschenviren

1. Die Viren der Pfeffinger (Rosetten-) und der Stecklenberger Krankheit

Von

H. Kegler

Mit 2 Abbildungen

Die bisher in Europa nachgewiesenen Kirschenviren kommen auf einer Reihe gemeinsamer Wirtspflanzen vor. Das Virus der Pfeffinger (Rosetten-) Krankheit wurde durch Blumer und Geering (1950), Mulder (1951) und Kotte (1951) auf Süßkirschen (*Prunus avium* L.) nachgewiesen. Lewis (1958) und Adams und Kessler (1958) stellten das gleiche Virus an Sauerkirschen (*Prunus cerasus* L.) fest. Das Virus der Stecklenberger Krankheit isolierten Baumann und Klinkowski (1955) von Sauerkirsche (*P. cerasus* L.), Vogelkirsche (*P. avium* L.) und Steinweichsel (*P. mahaleb* L.). Das gleiche Virus kommt an Pflaumen (*P. domestica* L.) latent vor (Baumann 1959).

Durch den gemeinsamen Wirtspflanzenkreis der genannten Viren, insbesondere durch ihr Vorkommen auf Süß- und Sauerkirsche, sind Mischinfektionen nicht ausgeschlossen. Eine sichere Diagnose des hierbei auftretenden Krankheitsbildes setzt die Isolierung der an der Mischinfektion beteiligten Komponenten voraus. Der Nachweis der Pfeffinger und der Stecklenberger Krankheit erfolgt in der Regel durch Knospen- oder Rindenübertragung (chip budding) auf geeignete Indikatoren oder durch mechanische Übertragung auf Gurke. Da diese Testpflanzen gegenüber beiden Viren anfällig sind und sich die durch sie hervorgerufenen Symptome unter bestimmten Bedingungen ähneln können, ist eine Differenzierung oft nur schwer möglich.

Im folgenden wird über eine Reihe von krautigen Wirtspflanzen berichtet, die sich zur Differenzierung der Viren der Pfeffinger und der Stecklenberger Krankheit eignen.

Reaktion verschiedener Wirtspflanzen
nach Infektion durch das Pfeffinger- (PfV) und das Stecklenberger-Virus (StV)

Wirtspflanze	Symptome		Rückübertragung			
	PfV	StV	PfV	StV	Mischinfektion PfV	Mischinfektion StV
Ammi majus L.	latent	Nach 14 bis 20 Tagen hellgrüne mosaik- oder punktartige Flecke auf Folgeblättern (Abb. 1)	+	+	0	0*)
Chenopodium foetidum Schrad.	Nekrotische Lokalläsionen nach 7 Tagen auf Abreibeblättern, später Absterben der Pflanze von der Spitze her (Abb. 1)	—	+	—	+	—
Datura stramonium L.	Nach 7 bis 10 Tagen nekrotische Lokalläsionen auf Abreibeblättern, hellgrüne Ringe auf Folgeblättern (Abb. 2)	—	+	—	+	—
Petunia hybrida hort.	Hellgrüne Ringflecke und Linien	Nach 14 bis 20 Tagen nekrotische Ringe (Abb. 1)	+	+	0	0
Ocimum basilicum L.	Nach 24 Tagen nekrotische Ringe auf Abreibeblättern, hellgrüne gezonte Ringe, Linien und Mosaik auf Folgeblättern (Abb. 2)	—	+	—	+	—
Solanum sisymbriifolium Lam.	Nach 7 bis 10 Tagen nekrotische Lokalläsionen auf Abreibeblättern, hellgrüne Ringe und Linien auf Folgeblättern; späterer Zuwachs symptomlos (Abb. 2)	-	+		+	—

*) 0 = Rückübertragungen wurden nicht durchgeführt.

MATERIAL UND METHODIK

Das Virus der Pfeffinger Krankheit wurde von BLUMER[1]) isoliert und stammt aus Wädenswil (Schweiz). Das Virus der Stecklenberger Krankheit isolierte BAUMANN von kranken Sauerkirschen (Sorte „Schattenmorelle") in Stecklenberg (Harz). Beide Viren wurden von Vogelkirsche bzw. Pfirsich auf Gurke (*Cucumis sativus* L., Sorte „Delikateß") übertragen und von hier bzw. direkt von Vogelkirsche auf die geprüften Arten inokuliert. Die Übertragung erfolgte durch Verreiben des unter Zusatz eines Puffergemisches (0,7 m

[1]) Herrn Dr. S. BLUMER, Wädenswil, sei auch an dieser Stelle für das Infektionsmaterial herzlich gedankt.

Abb. 1. Oben links *Ammi majus* L. mit hellgrüner Flekkung, unten links *Petunia hybrida hort.* mit feinen nekrotischen Ringen nach Infektion mit dem Stecklenberger Virus. Oben rechts *Chenopodium foetidum* Schrad. nach Infektion mit dem Pfeffinger Virus (links) und Inokulation mit dem Stecklenberger Virus (rechts)

Sörensenphosphatpuffer pH 7) hergestellten Mörserbreis auf die zuvor mit Karborund bestreuten Blattoberflächen. Die Versuche wurden mit jeweils 5 bis 15 Pflanzen durchgeführt und dreimal wiederholt. Die Viren wurden einzeln und im Gemisch inokuliert, die Rückübertragung erfolgte auf Gurke.

ERGEBNISSE

In der Tabelle (Seite 210) wird das Verhalten der geprüften Pflanzenarten gegenüber den verwendeten Viren wiedergegeben.

Als weitere latente Wirte des PfV erwiesen sich *Anethum graveolens* L., *Cyamopsis tetragonolobus* (L.) Taub., *Dipsacus silvester* Huds., *Iberis umbellata* L., *Malcomia maritima* R. Br. und *Matthiola annua* Sweet. Weiterhin ge-

Abb. 2. *Datura stramonium* L. mit hellgrünem Ringmuster (oben), *Ocimum basilicum* L. mit hellgrünen Ringen und Linien (Mitte) und *Solanum sisymbriifolium* Lam. mit hellgrauen, violett umrandeten Lokalläsionen auf Abreibeblättern (unten links) bzw. hellgrünem Ringmuster auf Folgeblättern (unten rechts) nach Infektion mit dem Pfeffinger Virus

lang die Übertragung des PfV auf *Nicotiana glutinosa* L., *Phaseolus vulgaris* L. und *Tetragonia expansa* Murr., die ebenso wie *Petunia hybrida* hort. und *Tropaeolum majus* L. bereits von PFAELTZER (1959) als Wirtspflanzen dieses Virus genannt wurden. *Tropaeolum majus* L. ist außerdem latenter Wirt des StV. Dieses Virus konnte dagegen durch Blattstielpfropfung auf folgende Arten nicht übertragen werden: *Duchesnea indica* (Andrew), Focke, *Gomphrena globosa* L., *Lactuca sativa* L., *Lycopersicon esculentum* Mill., *Phaseolus vulgaris* L., *Physalis floridana* Rydb., *Rumex acetosella* L., *Tetragonia expansa* Murr., *Vicia faba* L. und *Vigna sinensis* L. Endl.

DISKUSSION

Die bisherigen Untersuchungen lassen vermuten, daß der Wirtspflanzenkreis des PfV größer als der des StV ist. Demzufolge ist die Isolierung des PfV aus einem Gemisch beider Viren über verschiedene Wirte möglich. Dagegen wurde kein Wirt gefunden, der nur für das StV anfällig ist. Für die Isolierung des PfV aus einem Gemisch mit StV erscheinen *Chenopodium foetidum* Schrad., *Datura stramonium* L. und *Solanum sisymbriifolium* Lam. besonders geeignet, da die Symptome

nach relativ kurzer Inkubationszeit deutlich hervortreten und die Infektion hinreichend sicher gelingt.

Obwohl eine Isolierung des StV aus einem Gemisch mit dem PfV mit Hilfe der genannten Wirtspflanzen nicht möglich ist, gelingt die Erkennung des StV durch Übertragung des Gemisches auf *Ammi majus* L. Das PfV ist auf diesem Wirt latent, während das StV nach zwei bis drei Wochen zur Ausbildung hellgrüner punktartiger Flecke oder eines sprenkeligen Mosaiks führt.

Zusammenfassung

Durch mechanische Übertragung des Pfeffinger (PfV) und des Stecklenberger Virus (StV) wurde für beide Viren eine Reihe neuer krautiger Wirtspflanzen ermittelt. Die Mehrzahl von ihnen erwies sich nur gegenüber dem PfV als anfällig. Nach Übertragung des Virusgemisches PfV + StV ließ sich bei *Chenopodium foetidum* Schrad., *Datura stramonium* L., *Ocimum basilicum* L. und *Solanum sisymbriifolium* Lam. nur das PfV reisolieren. Das StV kann symptomatologisch an *Ammi majus* L. differenziert werden, da das PfV hier latent bleibt.

Fräulein Lore Hempel danke ich vielmals für ihre Hilfe bei der Durchführung der Versuche.

Literaturverzeichnis

Adams, R. E., and K. J. Kessler, 1958: Rosette or Pfeffingerkrankheit on Montmorency sour cherry in West Virginia. Plant dis. reptr. **42**, 568—572.

Baumann, G., 1959: Wirtspflanzen des Pflaumenbandmosaik-Virus in mittel- und norddeutschen Obstanlagen und Baumschulen. Phytopath. Z. **35**, 277—291.

— —, und M. Klinkowski, 1955: Ein Beitrag zur Analyse der Obstvirosen des mitteldeutschen Raumes. Phytopath. Z. **25**, 55—71.

Blumer, S., und J. Geering, 1950: Das Kirschbaumsterben im Baselland (Pfeffingerkrankheit). Phytopath. Z. **16**, 300—335.

Kotte, W., 1951: Die Schmalblättrigkeit der Süßkirsche (Pfeffingerkrankheit) auch in Deutschland. Phytopath. Z. **17**, 468—471.

Lewis, F. H., 1958: The Pfeffingerkrankheit or rosette disease in Pennsylvania sour cherry orchards. Plant dis. reptr. **42**, 563—567.

Mulder, D., 1951: De Eckelrader virusziekte van zoete kersen. Meded. dir. tuinb. **14**, 217—228.

Pfaeltzer, H. J., 1959: Onderzoekingen over de rozetziekte van de kers. T. planteziekten **65**, 5—12.

Besprechungen

Handbuch der Pflanzenphysiologie. Herausgegeben von W. Ruhland. Band XI. Heterotrophie. Redigiert von K. Mothes, XXV u. 1033 Seiten, 350 Abbildungen. Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg, 1959. DM 248,— (Subskriptionspreis DM 198,40).

Der Band „Heterotrophie" ist wohl einer der wichtigsten Teile des Handbuches für den Phytopathologen, und dieses nicht nur, weil er etwa in dem Abschnitt „Allgemeines" des Kapitels „Parasitismus und Symbiose" (H. Kern) eine kurzgefaßte Infektionslehre und in dem Abschnitt „Niedere Parasiten" einige wichtige Pflanzenkrankheiten bringt, das findet der Phytopathologe in den Büchern von Gäumann und im Sorauer ausführlicher. Diese Abschnitte sind eigentlich mehr für den „abgewandten" Physiologen als Orientierung von Interesse. Für den Praktiker sehe ich die Bedeutung mehr in den Kapiteln, die die allgemeineren Fragen der Heterotrophie behandeln und den augenblicklichen Stand der Grundlagenforschung auf diesem auch für die Praxis so wichtigen Gebiet der Pflanzenphysiologie vermitteln.

Nach einer kurzen Einführung des Bandherausgebers behandeln H. I. Vogel und D. M. Bonner die Benutzung von Mutanten aus dem Reich der Mikroorganismen zum Studium des Stoffwechsels. Einem Überblick über den Erwerb von Wasser und Mineralstoffen durch die Hemiparasiten unter den Blütenpflanzen (O. Härtel) folgen unter der Überschrift „Physiologisch-chemische Fragen der Heterotrophie" Abschnitte über die Methoden der Kultur mit organischen Verbindungen (Kisser), den ökonomischen Koeffizienten (Härtel), über die Fermentausscheidung und Fermentadaptation (Phaff und Vogel), die Stickstoffheterotrophie (Nielsen) und spezielle Probleme der Organ- und Gewebekultur (Street). Das Kapitel „Biologie der Heterotrophen" umfaßt Darstellungen der Phagotrophie (Pringsheim) und Carnivorie (Schmucker und Linnemann), des Saprophytismus bei Bakterien und Actinomyceten (W. Schwarz), Algen und Flagellaten (Pringsheim), Pilze und Schleimpilze (Lilly) sowie Kormophyten (Schmucker). Entsprechende Abschnitte sind der Symbiose und dem Parasitismus gewidmet. Hier findet man außer den oben bereits angeführten Beiträgen von Kern noch solche über höhere Parasiten (Schmucker), Syncyanosen (Geitler), Bakterien und Actinomyceten (W. Schwarz), Flechten (Quispel), Mycorrhiza (Melin), Pflanzen-Tier-Symbiosen (Toth) und die gegenseitige Beeinflussung höherer Pflanzen (Rademacher). Daran schließt sich eine Mikrobiologie des Bodens (Jensen) und der Gewässer (W. Schwarz). Scheffer und Ulrich unterrichten über Aufbau, Eigenschaften und pflanzenphysiologische Wirkungen des Humus, und Jensen führt uns im Schlußkapitel des Bandes: „Die Bedeutung der Heterotrophen für den Kreislauf der Stoffe" noch einmal klar vor Augen, daß die organischen Stoffe autotroph aufgebaut und dann von heterotrophen Organismen wieder mineralisiert werden müssen, damit das Leben sich fortsetzen kann. — Fast ein Fünftel des Bandumfanges entfallen wieder auf Namen- und zweisprachiges Sachregister.

Zunächst empfindet man die umfangreichen, im guten alten Sinn rein „biologischen" Kapitel wie etwa über die Carnivoren und die Parasiten unter den höheren Pflanzen in einem physiologischen Handbuch als Fremdkörper, aber dann muß man dem Bandherausgeber doch beipflichten, daß „sie noch immer als eine Fundgrube ausgesprochen physiologischer Probleme angesehen werden müssen, so daß man hoffen könnte, daß ein solches Handbuch auch zum Anlaß der Wiederaufnahme versickerter Forschungen wird". — Auf die fließenden Übergänge zwischen Saprophytismus, Symbiose und Parasitismus wird überall gebührend hingewiesen. Einige kleine Unebenheiten sollen noch erwähnt werden. Auf Seite XXI wird *Rhodospirillum* richtig als photoorganotroph bezeichnet, auf Seite XXII dagegen unter Photolithotrophie aufgeführt. Auf derselben Seite muß es Chemotrophie statt Chemotherapie heißen. Weshalb *Spirillium* statt *Spirillum*? Aus *Drosophyllum* ist über *Drosophillum* der Überschrift der Originalarbeit von Quintanilla auf Seite 225 und im

Literaturverzeichnis (Seite 282) eine *Drosophila* geworden. Bei *Drosophyllum* hebt sich zwar zum Unterschied von *Drosera* die ganze Schleimglocke ab, daß der Schleim aber gar keine Fäden zieht (Seite 225), trifft jedenfalls für die bei uns in den Gewächshäusern kultivierten Individuen nicht zu. Die Ausdrucksweise „... Bakterien ..., dringen aktiv in die wassergefüllten Spaltöffnungen ein oder werden passiv in sie eingesogen", ist zumindest zweideutig.

Der vorliegende Band ist der letzte, dessen Erscheinen der Herausgeber des Handbuches, Wilhelm Ruhland, noch erlebt hat. Nachdem die Konzeption des Handbuches bereits festlag und auch schon ein Stab von Mitarbeitern dafür gewonnen war, wurde die ganze Arbeit durch den Krieg zunichte gemacht. Nach Kriegsende hat Ruhland aber den Plan gleich wieder aufgenommen, erneut von vorn angefangen und ihn eisern durchgeführt, so daß die Fortführung des einmaligen Werkes auch nach seinem für uns so schmerzlichen Ableben gesichert ist. Dafür sei ihm auch an dieser Stelle gedankt.

H. Drawert, Marburg (Lahn)

Plant Physiology. A Treatise. Herausgegeben von F. C. Steward. Band II. Plants in relation to water and solutes. XVII u. 758 Seiten, 205 Abbildungen. Academic Press New York und London, 1959. $ 22,—.

Während das noch im Erscheinen begriffene „Handbuch der Pflanzenphysiologie" im Springer-Verlag mehr ein enzyklopädisches Nachschlagewerk ist, nimmt das von Steward herausgegebene Werk, jedenfalls nach dem jetzt erschienenen zweiten Band zu schließen, mehr eine Mittelstellung zwischen einem Lehrbuch und einem Handbuch ein. Für das ganze Werk sind sechs Bände vorgesehen, und davon soll der erste Band, der die zellphysiologischen Grundlagen bringt, in zwei Teilbänden erscheinen: I A = Zelluläre Organisation und Zellatmung, I B = Photo- und Chemosynthese. Der dritte Band ist für die anorganische und der vierte Band für die organische Ernährung einschließlich des allgemeinen Stoffwechsels vorgesehen. Band 5 und 6 sollen dann Wachstums- und Entwicklungsphysiologie umfassen. Bei den Bearbeitern handelt es sich zum Teil um Autoren, die auch entsprechende Gebiete im „Handbuch" dargestellt haben.

Der vorliegende zweite Band behandelt den Wasserhaushalt der Pflanze im weitesten Sinn. Das Schwergewicht liegt auf der Stoffaufnahme, der Stoffleitung und dem Stofftransport, Vorgänge, die naturgemäß mit dem Wasserhaushalt eng gekoppelt sind. In einer einleitenden Notiz weist der Herausgeber auf die Notwendigkeit der genauen taxonomischen Charakterisierung der benutzten Versuchspflanzen hin. Ein Punkt, der bisher in vielen physiologischen Arbeiten vernachlässigt worden ist, aber im Interesse einer Reproduzierbarkeit der Ergebnisse nicht scharf genug betont werden kann, da verschiedene Arten einer Gattung, ja selbst Varietäten oder Kulturformen einer Art sich in ihrem physiologischen Verhalten erheblich unterscheiden können. Im einzelnen behandelt R. Collander die Permeabilitätseigenschaften der Plasmamembranen sowie die passive und die aktive Stoffaufnahme durch die Zelle. Mit Recht hebt der Autor hervor, daß der Begriff „Permeabilität" nur im Sinne einer passiven Membrandurchwanderung gebraucht werden sollte. Mit dem Wasserhaushalt der Zelle befaßt sich T. A. Bennet-Clark, und O. V. S. Heath schildert eingehend den Spezialfall der Schließzellen. Nach diesen Kapiteln, die mehr dem Verhalten der Zelle gewidmet sind, stellt der folgende Beitrag von F. C. Steward und J. F. Sutcliffe über die Aufnahme und Speicherung der anorganischen Stoffe sowie ihren Transport innerhalb der Gewebe bereits eine Überleitung von der Zelle zu dem Verhalten von Zellverbänden, ganzer Organe und schließlich der ganzen Pflanze dar. Neben den klassischen Versuchen mit den großzelligen Algen werden auch die Untersuchungen mit den kleinzelligen Hefen und Bakterien sowie mit Gewebsstücken geschildert und die Verhältnisse bei der Wurzel, der ganzen Land- und auch der Wasserpflanzen bearbeitet. Den Transport der anorganischen Stoffe auf größere Strecken behandelt O. Biddulph. Dazwischen ist aber noch ein Abschnitt von C. A. Swanson über die Wanderung der organischen Stoffe auf größere Entfernungen eingeschaltet. Eine Darstellung der Transpiration und des Wasserhaushaltes der ganzen Pflanze von P. J. Kramer beschließt den Band. Autoren-, Pflanzennamen- und Sachregister nehmen 28 Seiten in Anspruch.

Jedes Kapitel bringt am Ende ein Literaturverzeichnis mit den wichtigsten Arbeiten. Häufig werden auch dankenswerterweise historische Gesichtspunkte berücksichtigt. Die —

verglichen mit dem „Handbuch" — nicht so starke Aufsplitterung des Stoffes auf verschiedene Autoren bedingt ein geschlosseneres Bild und betont so mehr den Lehrbuchcharakter des Werkes.

H. Drawert, Marburg (Lahn)

Săvulescu, Tr., und Olga Săvulescu. Tratat de Patologie Vegetală. (Lehrbuch der Phytopathologie). Vol. I, 725 Seiten, 142 Abbildungen. Akademieverlag der Rumänischen Volksrepublik. Bukarest 1959. Lei 43,30 = DM 30,30 (rumänisch).

Vor zwei Jahren hat der erste Verfasser sein hervorragendes Werk „Die Ustilaginales der Rumänischen Volksrepublik" abgeschlossen. Nun hat er zusammen mit seiner Tochter von einem in drei Bänden geplanten umfassenden Lehrbuch den ersten Band vorgelegt.

In der Einleitung wird nach einem geschichtlichen Rückblick über die Phytopathologie in der Welt und in Rumänien die Organisation des rumänischen Pflanzenschutzes dargelegt.

Kapitel I behandelt die allgemeinen, grundlegenden Begriffe über Pflanzenkrankheiten an Hand von ausgewählten Beispielen, die vorwiegend der Mykologie, dem Spezialgebiet der Verfasser, entnommen wurden: Saprophytie; Parasitismus; Symbiose; Virulenz und Aggressivität der Krankheitserreger mit den inneren (z. B. sexuell bedingten) und äußeren (Umwelt) Faktoren, die diese beeinflussen; Ausbreitung und Übertragung der Pflanzenkrankheiten; Epidemiologie; Infektionsverlauf; morphologisch-anatomische, biochemische und physiologische, durch die Erkrankung hervorgerufene Modifikationen der Pflanzen.

Kapitel II. Resistenz und Immunität der Wirtspflanzen: Mechanisch und physiologisch-chemisch bedingte Resistenz; Ursachen der Resistenzänderungen; infektionsgebundene Abwehrreaktionen (Prämunität); durch Vaccine und serologisch bedingte Immunität und ihr Zusammenhang mit Anaphylaxie und Bakteriophagen.

Kapitel III behandelt auf 80 Seiten das Grundlegende der Krankheitsbekämpfung: A. Kulturmethoden (Agrophytotechnik). B. Biologische Methoden (Biotherapie), wozu Bakteriophagen, Hyperparasiten und antagonistisch wirkende Mikroorganismen (Antibiotika) gerechnet werden. C. Physikalisch-mechanische Methoden. D. Chemische Methoden (Chemotherapie), unter denen die hauptsächlichen, besonders älteren und in der Praxis eingeführten Pflanzenschutzmittel, geordnet nach anorganischen und organischen Fungiziden, Insektiziden, Begasungsmitteln, Herbiziden und Mitteln zur Bodenentseuchung unter besonderer Berücksichtigung der rumänischen Verhältnisse charakterisiert werden. Auf die Quarantänemaßnahmen wird kurz eingegangen.

In den folgenden fünf Kapiteln werden die ersten Gruppen der Pflanzenkrankheiten in der klassischen Einteilung besprochen. Kapitel IV: Nichtparasitäre Erkrankungen, hervorgerufen durch innere und äußere Faktoren, wie Bodenverhältnisse, ungünstige klimatische Bedingungen, giftige Gase, Staub, Schäden nach Anwendung von Pflanzenschutzmitteln, Verletzungen.

Kapitel V: Virosen. Nach einer historischen Betrachtung und den allgemeinen Abschnitten über Symptomatik, Natur, Eigenschaften, Ursprung, Nomenklatur, Übertragung und Bekämpfung der pflanzenpathogenen Viren folgt eine Einzelbeschreibung der im europäischen Raum auftretenden wichtigen Erkrankungen in 16 Wirtsfamilien.

Kapitel VI: Erkrankungen durch Flagellaten.

Kapitel VII: Bakteriosen. Geschichtliches, Nomenklatur, Klassifizierung und Biologie der pflanzenpathogenen Bakterien, Symptome der erkrankten Pflanzen, Einzelbeschreibung der Erkrankungen in 18 Wirtsfamilien.

Kapitel VIII: Algen und Myxomyzeten als Schaderreger.

Das Sachregister ist vollständig. Die ausgewählte Literatur wurde übersichtlich nach jedem Kapitel zusammengefaßt, so daß auch der Sprachunkundige aus der weltweiten Auswertung der fachwissenschaftlichen Erkenntnisse großen Nutzen ziehen kann. Die von vielen eigenen Erfahrungen getragenen Ausführungen der berufenen Phytopathologen werden an erster Stelle für rumänische Studenten und Fachwissenschaftler wertvoll und richtunggebend sein. Eine gute Wiedergabe der Fotografien ist leider nicht immer gelungen.

G. Schuhmann, Berlin-Dahlem

Krankheiten und Schädlinge der Kulturpflanzen

und ihre Bekämpfung

Für Praxis und Studium

Von Prof. Dr. H. Braun und Dr. E. Riehm

8., neubearbeitete Auflage. 1957. 376 Seiten mit 346 Abbildungen.
Kart. DM 27,60; Ganzleinen DM 29,80

Dieses Werk hat durch seine in rascher Folge erschienenen Neuauflagen den neuzeitlichen Erkenntnissen und Erfahrungen auf dem Gebiet des Pflanzenschutzes und den Fortschritten in den Bekämpfungsmethoden in besonderer Weise Rechnung tragen können.

„In vorzüglicher Ausstattung, mit reicherer Bebilderung und vermehrtem, auf den neuesten Stand gebrachten Text präsentiert sich die 8. Auflage des bereits zum international geachteten Standardwerk gewordenen Buches von Braun-Riehm. Das Werk wird infolge seiner in dieser Auflage erreichten Vervollkommnung weitere Freunde aus allen interessierten Kreisen zu den bisherigen hinzugewinnen." *Zentralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde, Infektionskrankheiten und Hygiene*

Pflanzenpathogene Bakterien

Eine Einführung mit Hinweisen auf einschlägige bakteriologische und serologische Arbeitsmethoden

Von Ob.-Reg.-Rat a. D. Dr. C. Stapp

1958. 260 Seiten mit 100 Abbildungen. Kart. DM 29,—; Ganzleinen DM 32,—

„Das vorliegende Buch schließt tatsächlich eine bisher vorhandene empfindliche Lücke im Schrifttum über Pflanzenpathologie, denn es stellt das erste Lehrbuch, in dem das Gebiet der pflanzenpathologischen Bakterien behandelt wird, dar. Dem Verfasser, der weltweiten Ruf auf diesem Forschungsgebiet genießt, ist daher für dieses Werk besonders zu danken."
Anzeiger für Schädlingskunde

„Eine jahrzehntelange Erfahrung hat in diesem Werk ihren Niederschlag gefunden. Das Buch ist nach Form, Inhalt und Darstellung, nach seinem Umfang und seiner Auswahl in gleicher Weise vorbildhaft und wird dem hinlänglich bekannten Namen des Verfassers ein weiteres Ruhmesblatt hinzufügen." *Zeitschrift für Pflanzenzüchtung*

VERLAG PAUL PAREY / BERLIN UND HAMBURG

Wir liefern aus:

Bibliographie der Pflanzenschutzliteratur

Herausgegeben von der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Fortwirtschaft Berlin-Dahlem

Bearbeitet von Reg.-Rat Dr. J. Bärner

Die „Bibliographie der Pflanzenschutzliteratur" wurde erstmals 1921 herausgegeben. Bis 1944 erschienen nacheinander 21 Bände, die eine Zusammenfassung der gesamten Weltliteratur bis zum Jahre 1939 enthielten. Inzwischen wurde die Reihe fortgesetzt, und es sind seitdem folgende Bände erschienen:

1940—1945 Zwei Bände.	1356 Seiten. Broschiert DM 97,—
1946—1947	501 Seiten. Broschiert DM 44,50
1948—1949	730 Seiten. Broschiert DM 65,—
1950	479 Seiten. Broschiert DM 42,—
1951	464 Seiten. Broschiert DM 38,—
1952	474 Seiten. Broschiert DM 43,—

Soeben erschien:

1953	569 Seiten. Broschiert DM 72,—

Weitere Bände befinden sich in Vorbereitung. Durch diese Literatur-Zusammenstellungen werden der wissenschaftlichen Forschung wie der Praxis die Erfahrungen und Entwicklungen des Auslandes zugänglich gemacht, und es dokumentiert sich darin die Bedeutung, die dem Pflanzenschutz überall in der Welt beigemessen wird.

Soeben erschien:

Leitfaden des Pflanzenschutzes im Obst- und Gemüsebau

Von Prof. Dr. W. Kotte, Freiburg i. Br.

136 Seiten mit 98 Abbildungen. Kart. DM 9,80

Fragen des praktischen Pflanzenschutzes im Obst- und Gemüsebau, wie sie sich dem Gartenfreund und dem jungen Gärtner täglich stellen, werden in diesem neuen Leitfaden verständlich und gut übersichtlich behandelt. Der Verfasser ist als Autor zweier bewährter, umfassender Werke über die gleichen Themen weit bekannt. Er ist daher besonders berufen, jedem, der sich schnellen Rat über aufgetretene Krankheiten oder Schäden in seinen Kulturen holen will, mit seinem neuen Buch eine fachlich bestens fundierte Hilfe zu geben. Instruktive Bilder und übersichtliche Tabellen erleichtern die Benutzung.

VERLAG PAUL PAREY / BERLIN UND HAMBURG